

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra anorganické chemie



Deriváty 7-azaindolu a jejich koordinační sloučeniny

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor: Eva Jakobová

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Bioanorganická chemie

Typ studia: Prezenční

Vedoucí práce: doc. Mgr. Pavel Štarha, Ph.D.

Termín odevzdání práce: 29. 4. 2016

Já, Eva Jakubová, prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci Deriváty 7-azaindolu a jejich koordinační sloučeniny sepsala samostatně pod odborným dohledem doc. Mgr. Pavla Štarhy, Ph.D. Veškerou použitou literaturu a elektronické zdroje jsem uvedla na konci práce.

Souhlasím s tím, aby má práce byla zpřístupněna v knihovně Katedry anorganické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne: 29. 4. 2016

Eva Jakubová

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala doc. Mgr. Pavlu Štarhovi, Ph.D. za odborné vedení a cenné připomínky při vypracování této bakalářské práce, taktéž za interpretaci získaných výsledků a pomoc při jejich zpracování. Dále bych ráda poděkovala kolektivu Katedry anorganické chemie, a to konkrétně Mgr. Radce Křikavové, Ph.D. a Mgr. Peteru Antalovi, Ph.D. za provedení NMR spektroskopie, Mgr. Aleně Klanicové, Ph.D. za provedení infračervené spektroskopie, RNDr. Bohuslavu Drahošovi, Ph.D. za provedení hmotnostní spektroskopie a Pavle Richterové za provedení elementární analýzy. Dále bych ráda poděkovala vedoucímu Katedry anorganické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci, prof. RNDr. Zdeňku Trávníčkovi, Ph.D., za umožnění vypracování předložené bakalářské práce na půdě zmíněné katedry.

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora: Eva Jakubová
Název práce: Deriváty 7-azaindolu a jejich koordinační sloučeniny
Typ práce: Bakalářská
Pracoviště: Katedra anorganické chemie, Přírodovědecká fakulta,
Univerzita Palackého v Olomouci
Vedoucí práce: doc. Mgr. Pavel Štarha, Ph.D.
Rok obhajoby práce: 2016

Abstrakt: Byla připravena série 1,2,3,4,5-pentametylcyklopentadienových (Cp^*) polosendvičových iriditých dichloro komplexů s monodentátně koordinovanými halogeno deriváty 7-azaindolu (*naza*) o obecném vzorci $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{naza})\text{Cl}_2]$ (**1–7**). Komplexy byly charakterizovány pomocí elementární analýzy (C, H, N), hmotnostní spektrometrií (ESI+, ESI–), FTIR, ^1H NMR a ^{13}C NMR spektroskopii. U reprezentativního komplexu **7** byla provedena studie (^1H NMR spektroskopie) stability připravených látek ve vodu obsahujících rozpouštědla, jejíž výsledky poukazují na rozpad uvedeného komplexu za použitých experimentálních podmínek.

Klíčová slova: 1,2,3,4,5-pentametylcyklopentadienyl, iridium, 7-azaindol, syntéza, charakterizace
Počet stran: 45
Jazyk: Čeština

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Eva Jakubová

Title: 7-azaindole derivatives and their coordination compounds

Type of thesis: Bachelor

Department: Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Science, Palacký University in Olomouc, Czech Republic

Supervisor: doc. Mgr. Pavel Štarha, Ph.D.

The year of presentation: 2016

Abstract: A series of the 1,2,3,4,5-pentamethylcyclopentadienyl (Cp^*) half-sandwich Ir(III) dichloro complexes, containing the monodentate-coordinated 7-azaindole derivatives (*naza*), of the general formula $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{naza})\text{Cl}_2]$ (**1–7**) was prepared. The prepared complexes were fully characterized by elemental analysis (C, H, N), mass spectrometry (ESI+, ESI–), FTIR, ^1H NMR and ^{13}C NMR spectroscopy and the obtained results confirmed the proposed composition of the studied complexes. ^1H NMR study of the aqueous chemistry of the representative complex **7** showed on low stability of this compound in the used water-containing solutions.

Keywords: 1,2,3,4,5-pentamethylcyclopentadienyl, iridium, 7-azaindole, synthesis, characterisation

Number of pages: 45

Language: Czech

Obsah

1	Úvod a cíle bakalářské práce	7
2	Teoretická část	8
2.1	Biologicky aktivní komplexy platiny	8
2.1.1	Mechanismus účinku	10
2.2	Protinádorově aktivní polosendvičové komplexy iridia	14
2.2.1	Vliv cyklopentadienylového kruhu na chování komplexu	15
2.2.2	Vliv chelatujících ligandů na chování Ir(III) polosendvičových komplexů	18
2.2.3	Komplexy Ir(III) jako potenciální biologické katalyzátory	19
2.2.4	Dichloro polosendvičové komplexy	21
2.2.5	Mechanismus účinku iriditých komplexů	22
3	Experimentální část	27
3.1	Chemikálie a přístroje	27
3.2	Syntéza polosendvičových Ir(III) komplexů s deriváty 7-azaindolu	28
3.2.1	Syntéza $[\text{Ir}(\mu\text{-Cl})\text{Cp}^*\text{Cl}]_2$	28
3.2.2	Syntéza polosendvičových iriditých komplexů 1–7	28
3.3	Studium stability komplexu 7	33
4	Výsledky a diskuze	34
4.1	Studium stability komplexu 7	40
5	Závěr	41
6	Použitá literatura	42

1 Úvod a cíle bakalářské práce

Prospěšnost některých kovů a kovových sloučenin pro lidský organizmus je známa již od starověkého Egypta, kde byly využívány např. antimikrobiální účinky stříbra či mědi, nebo od dob starověké Číny, kdy se arsenik používal na léčbu syfilidy [1]. V posledních desetiletích jsou v medicíně z bioanorganických látek využívány zejména koordinační sloučeniny některých kovů (např. platina nebo zlato) [2]. Lze si všimnout vzrůstajícího zájmu o komplexy přechodných kovů v biomedicínských výzkumech, především k léčbě rakoviny, která je řazena mezi tzv. civilizační choroby. Tím, že se zvyšuje počet lidí léčených na různé druhy rakoviny, rostou i nároky na efektivitu léčby, a to nejen co se týká procentuální úspěšnosti vyléčených pacientů a omezení negativních vedlejších účinků konvenčních léčiv, ale i pohledem ekonomické stránky aplikované léčby. Jeden ze směrů a bioanorganického výzkumu perspektivních protinádorově aktivních sloučenin je zaměřen na prvky 9. skupiny periodické soustavy prvků, hlavně na komplexy iridia a rhodia, které vykazují biologickou aktivitu na široké spektrum nádorových linií [3].

Cílem předložené práce bylo seznámit se s příslušnými chemickými databázemi a literárními zdroji, pomocí nichž byla zpracována literární rešerše tematiky klinicky používaných protinádorových léčiv na bázi platiny, protinádorově aktivních sloučenin iridia a koordinační sloučeniny přechodných kovů s deriváty 7-azaindolu. Cílem rovněž byla příprava modelových sloučenin organokovových polosendvičových dichloridoiriditých komplexů s 1,2,3,4,5-pentametylcyklopentadienylovým ligandem (Cp^*) a vybranými halogenderiváty 7-azaindolu (*naza*) a následná charakterizace připravených látek vhodnými analytickými metodami ve spolupráci s vedoucím práce a dalšími zaměstnanci Katedry anorganické chemie PřF UP v Olomouci.

2 Teoretická část

2.1 Biologicky aktivní komplexy platiny

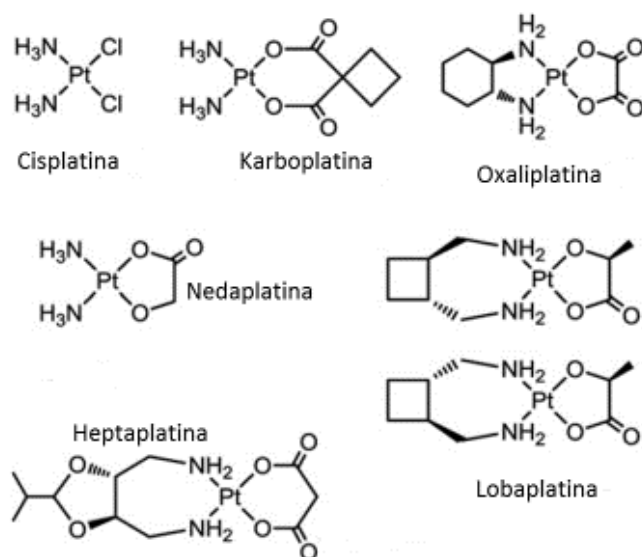
První popis této platnaté sloučeniny o složení *cis*-diamin-dichloroplatnatý komplex (*cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂]) byl proveden už v polovině 19. století Michele Peyronem. Tato sloučenina byla dlouhé roky známa jako Peyronův chlorid, neboli Peyronova sůl.

Skutečný rozmach však poznala zhruba o sto let později, v 60. letech 20. století. Americký biofyzik Barnett Rosenberg zkoumal inhibiční účinky elektrolýzy na buněčném dělení bakterií *E. coli*, kdy použil jednu z elektrod právě z platiny, kterou pokládal za inertní. Bylo zjištěno, že za použitých podmínek z materiálu elektrody vznikají komplexy platiny, které zodpovídají za inhibici dělení studovaných bakteriálních buněk, přičemž nejaktivnější na pozastavení dělení bakterií byla právě výše zmíněná látka, známá zhruba od té doby jako tzv. cisplatina (Obr. 1.). Počátkem 70. let byla cisplatina poprvé použita v klinických testech i na lidech trpících rakovinou varlat a vaječníků. V roce 1978 americký úřad U. S. Food and Drug Administration (FDA) schválil cisplatinu jako nové chemoterapeutikum. Můžeme říci, že cisplatina položila základní kámen moderní éře cytostatik na bázi komplexů přechodných kovů [4,1].

Cisplatina byla a je za posledních zhruba 40 let jedním z nejužívanějších chemoterapeutik na trhu. Léčí se jí nádory varlat, vaječníků, močového měchýře, nemalobuněčného i malobuněčného karcinomu plic, spinocelulárního karcinomy hlavy a krku a některé typy nádorů gastrointestinálního traktu [5]. Bohužel se ukázalo, že některé rakovinné linie vykazují rezistenci. Za další obrovský problém lze považovat to, že pacienti užívající cisplatinu trpí značnými nežádoucími vedlejšími účinky. Nejvýznamnějšími z nich jsou myelosuprese – útlum krve tvorby, nefrotoxicita – poškození ledvin, neurotoxicita – poškození nervové tkáně, ototoxicita – poškození sluchu, zvracení, tvorbu sekundárních nádorů nebo neplodnost [6].

Prvotní úspěch cisplatiny měl obrovský dopad na výzkum nových léčiv na bázi platiny, která zde vystupuje jako centrální atom. Cílem výzkumů nových derivátů cisplatiny, jakožto potenciálních léčiv, bylo a stále je vykázat shodnou nebo vyšší protinádorovou aktivitu jako cisplatina a zároveň snížit množství nežádoucích účinků a jejich dopad na zdravé buňky nejen v blízkosti tumoru [6-9].

Z tisíců analogů cisplatiny se pouze okolo 30 z nich dostalo až do klinických testů, z toho většina byla v průběhu testovacích fází zamítnuta [1]. V dnešní době se celosvětově používají dva z nich – karboplatina a oxaliplatina (Obr. 1.), které považujeme za představitele II., resp. III. generace léčiv na bázi platiny [1,4,8]. Několik analogů cisplatiny (nedaplatina, lobaplatina, heptaplatina) je schváleno pouze v Asii (Obr. 1.). Další jsou potenciálním příslibem do budoucna např. pikoplatina nebo satraplatina, což je platičitý oktaedrický komplex s možností podávání orálně [6-11].



Obr. 1. Protinádorová léčiva na bázi platiny (převzato z [1] a upraveno)

Karboplatina [diamin-(1,1'-cyklobutandikarboxylato(2-))-O,O'-platnatý komplex (Obr. 1.) je jedním z derivátů cisplatiny. V případě karboplatiny dochází při hydrolytické aktivaci k odstupu cyklobutan-1,1'-dikarboxylátového dianiontu [10]. Karboplatina je 3stabilnější než cisplatin, vykazuje menší nehematologickou toxicitu, neurotoxicitu i nefrotoxicitu [4]. Avšak její nevýhodou je tzv. cross-rezistence s cisplatinou kvůli podobnému mechanismu účinku [4,8,10,12,13].

Oxaliplatina [(1*R*,2*R*)-cyklohexan-1,2-diamin]oxalato-O,O'-platnatý komplex (Obr. 1.) je vysoce aktivní vůči metastazujícímu kolorektálnímu karcinomu, když je podávána současně s 5-fluorouracilem nebo kyselinou folinovou [1,4,5,8,10,12,14].

Nedaplatina, neboli diamino[hydroxyacetáto(2-)-*O,O'*]platnatý komplex (Obr. 1.), je dalším analogem cisplatiny, který však není uznána celosvětově, ale pouze v jihovýchodní a východní Asii. Cytotoxicitu vykazuje přibližně stejnou jako cisplatina, avšak nežádoucí účinky má mnohem nižší než ona. Na druhé straně má pořád vysokou míru nežádoucích účinků [1,4,8,10].

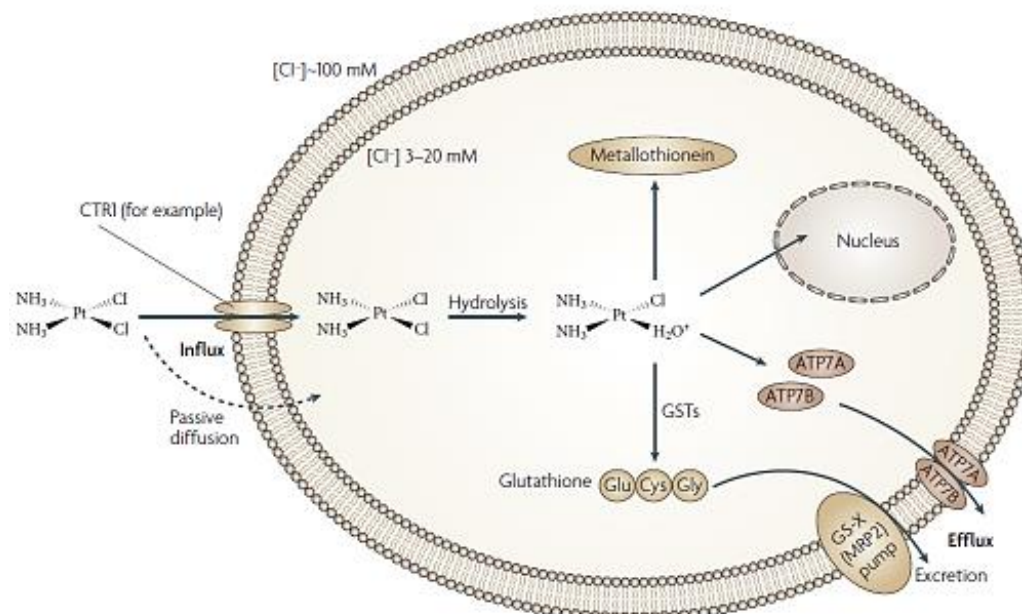
2.1.1 Mechanismus účinku

Rakovinné buňky mají na rozdíl od zdravých buněk rozdílné biochemické i biofyzikální vlastnosti. Díky zvýšenému metabolismu rostou rakovinné buňky mnohem rychleji. Je zde také zvýšená glykolýza a zvýšená produkce kyseliny mléčné, což má za následek hromadění protonů uvnitř buněk. Nadprodukce protonů uvnitř buněk spouští aktivaci mechanismu k jejich vylučování, což má za následek změny pH gradientu vně i uvnitř buňky – rozdílné pH oproti zdravým tkáním [1,15]. Spousta cytostatik funguje na principu cytotoxicity a navozuje stav buněčné smrti neboli apoptózy. Děje se tak díky redoxním vlastnostem jak léčiva, tak i změnou redoxních rovnovah v buňce [1,16].

Cisplatina a obecně cytostatika na bázi platiny se řadí mezi alkylační činidla, byť nemají alkylovou skupinu, ale jejich účinek je podobný – dochází k tomu, že se kovalentně navážou na jadernou DNA, z tohoto pohledu tedy cisplatina vystupuje jako elektrofil [9,12,13,15]. Mechanismus platnatých léčiv není doposud stále zcela objasněn, jelikož je to multikrokový proces, který je ovlivněn mnoha metabolickými cestami, které v lidském těle probíhají [14].

Cisplatina se podává pacientům intravenózně. Je to relativně nereaktivní molekula, která v lidském organismu reaguje jen s některými biomolekulami obsahujícími atomy síry, dusíku či kyslíku. Toto chování je dáno i tzv. teorií hard-soft kyselin a bází, kde platnatý kation je soft kyselinou a reaguje nejochotněji se soft bází – to znamená, že přednostně se bude vázat k atomům síry, následně k atomům dusíku a až v poslední řadě bude reagovat s atomy kyslíku, což má velký vliv na aktivitu. V krvi se cisplatina naváže na plazmatické bílkoviny, pomocí kterých je cévním systémem roznášena tělem až k cílovému místu [1,9,10,13]. Do buněk cisplatina vstupuje relativně pomalu, jelikož je vysoce polární. Vstřebávání je závislé na koncentraci Na^+ a K^+ ionů intracelulárně i extracelulárně [8]. Přes buněčnou membránu prostupuje dvěma hlavními způsoby:

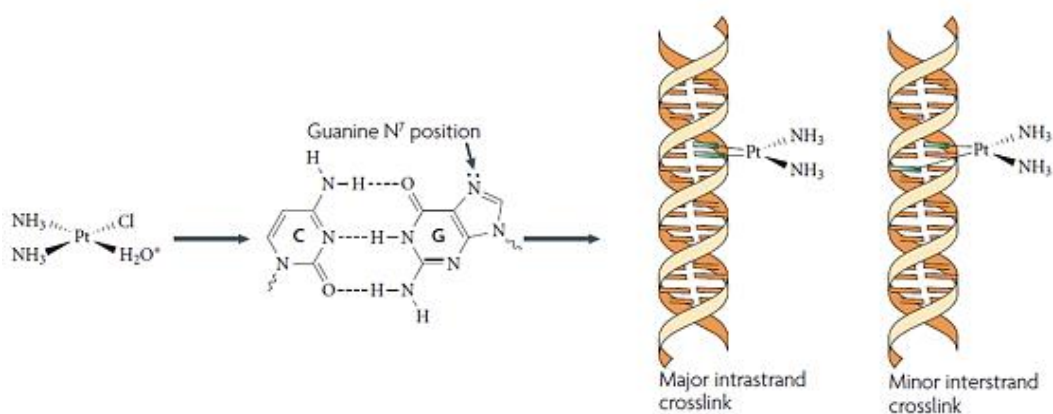
aktivním transportem pomocí přenašeče CTR1 (jedná se o plazmatický membránový přenašeč kontrolující intracelulární hladinu mědi) a pasivní difuzí (Obr. 2.) [8,9,10,11,17,18].



Obr. 2. Mechanismus účinku cisplatiny (převzato z [8])

Jelikož je cisplatinu považována za tzv. prodrug (proléčivo) [1,4], musí se v buněčné cytoplazmě aktivovat pomocí substituce ligandů na její reaktivní formu. Toto je počátek jejího mechanismu účinku. Díky rozdílným koncentracím chloridových iontů v extracelulárním prostoru (okolo 100 mM) a v buňce (10 mM) dochází právě až v cytoplazmě k hydrolyze, a tím k výměně Cl^- iontů cisplatinu za molekuly vody. Vznikají monoakva- ($\text{cis-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]^+$) a diaqua-částice ($\text{cis-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$) [8,9,13]. Tyto aktivované formy jsou schopny interagovat v buněčném jádře s DNA. Avšak reakce cisplatinu s molekulami obsahujícími atom síry (metalothioneiny, glutathionem (GSH), metioninem), které jsou běžně přítomné v cytoplazmě, je mnohem rychlejší než hydratace i než koordinace na jadernou DNA, což má značný vliv na distribuci aktivovaných forem cisplatinu až do jádra buňky, kde se pouze asi 1 % z podané cisplatinu váže až ke konečnému místu účinku, tj. k DNA [1,4,10,11]. V jádře buňky dochází ke kovalentní vazbě mezi DNA a aktivovanou formou cisplatinu. Cisplatinu preferuje vazbu k purinovým bázím, hlavně na N7 pozici imidazolového kruhu guaninu, méně na adenin [8,12,13]. Tím vznikají monofunkční adukty a

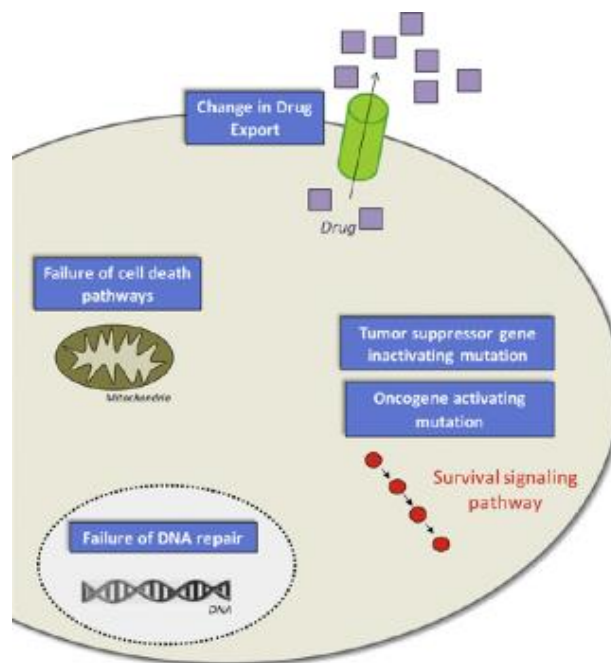
především bifunkční adukty. Při interakci převládá vazba na jednom vláknu DNA (tzv. intrastrand adukty) mezi sousedními guaniny (65 % aduktů), dále mezi guaninem a adeninem (25 % aduktů), méně pak vznikají vazby na obou vláknech (tzv. interstrand adukty) DNA (Obr. 3.) [8,10,12-14,18-20]. Tyto adukty jsou symbolizovány jako 1,2-G nebo, 1,2-AG. Byly i detekovány adukty 1,3-GXG, kde X = adenin, cytosin, thymin. Postupně se ukazuje, že jen pár aduktů v celém genomu může být spouštěči inhibice replikace DNA, tvorby RNA a syntézy proteinů, vedoucí k buněčné smrti, tedy k léčbě nádorových onemocnění [13].



Obr. 3. Interakce aktivované formy cisplatiny s cílovou molekulou DNA (převzato z [8])

Vznik aduktů mezi cisplatinou, resp. obecně léčivý na bázi platiny, způsobují překroucení, ohnutí a uvolnění superhelikální struktury DNA [13]. Tyto změny ve 3D struktuře jsou zaznamenány buňkou, která následně vyšle signál pro inhibici buněčného cyklu. Zastaví se hlavně replikace z důvodu, aby se nereplikoval poškozený DNA templát a také, aby nedošlo k poškození chromozomů [13]. Cisplatinu pozastavuje buněčný cyklus v G2 fázi [11,18,21]. Léčená buňka se nicméně snaží poškozenou DNA opravit svými opravnými mechanismy, zejména nukleotidovou excizní opravou (NER) a tzv. mismatch reparací [4,8,10,12,13,15,18]. Pokud buňka není schopna opravit poškozenou DNA, aktivuje se složitý mechanismus pro programovanou buněčnou smrt neboli apoptózu.

Negativní věcí na klinickém použití cisplatiny je nejen její vysoká míra toxicity vůči zdravým buňkám, ale i rezistence některých typů nádorů. Rezistence může být získaná a vrozená (též vnější a vnitřní) (Obr. 4) [21]. Vnější je charakteristická např. pro ovariální rakoviny, kdy k rezistenci dochází v průběhu chemoterapeutických cyklů, po kterých cisplatina přestává účinkovat. Vnitřní rezistenci se rozumí taková, kdy rakovinná linie je už geneticky rezistentní, neovlivněná léčbou. V případě cisplatiny je typická např. pro kolorektální karcinomy [8].

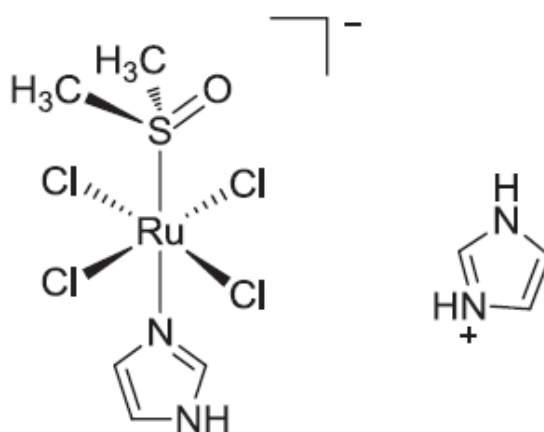


Obr. 4. Obecné schéma rezistence na podávaná protinádorová chemoterapeutika (převzato z [22])

Rezistence je nejvíce způsobena [4,9,10,11,18,22]:

- 1) sníženou schopností buněčné kumulace – je snížen buněčný příjem a zároveň zvýšen buněčný výdej
- 2) deaktivace cisplatiny v buňkách díky navázání se na proteiny obsahující thiolovou skupinu (GSH, metalothioneiny)
- 3) zvýšená reparační schopnost DNA a tolerance vůči cisplatině.

Všechny tyto důvody vedou ke snaze najít nové sloučeniny, které by byly účinné na rezistentní rakovinné linie a které by současně snižovaly míru toxicity na zdravé tkáni. Postupně se směr výzkumu zaměřil na jiné kovy VIII. B skupiny než jen na platinu. Za průlomovou sloučeninu můžeme v tomto směru považovat $[\text{ImH}][\text{trans-Ru}(\text{DMSO})(\text{Im})\text{Cl}_4]$ (NAMI-A; Im = imidazol) [19,23]. Postupně ruthenium dostávalo více a více prostoru na výzkumném poli. V posledních letech se do popředí zájmu dostávají i iridium, osmium nebo rhodium, které vykazují zajímavé biologické účinky a mnohé sloučeniny působí právě i na rezistentní rakovinné linie, přičemž nejsou toxické vůči zdravým buňkám.



Obr. 5. Strukturální vzorec NAMI-A (převzato z [19])

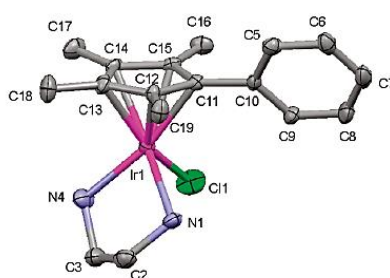
2.2 Protinádorově aktivní polosendvičové komplexy iridia

Iridium bylo dlouhá léta považováno za velmi kineticky inertní kov, což je možné prezentovat na výměně aqua ligandů kationtu $[\text{Ir}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$, která trvá přibližně 300 let [11,24]. Avšak při použití vhodných ligandů lze problém kinetické inertnosti nízkospinových ($5d^6$) iriditých komplexů překonat.

Dlouhá léta se výzkum protinádorových koordinačních sloučenin iridia zaměřoval na iridium v oxidačním stavu +I (konfigurace $5d^8$), kdy sloučeniny byly planární čtvercové geometrie jako cisplatina. Příkladem takových sloučenin je $[\text{Ir}(\text{acac})(\text{cod})]$ (acac = acetylacetonát; cod = cyklookta-1,5-dien) nebo dinukleární $[\text{Ir}(\mu\text{-Cl})(\text{cod})_2]$. Oba tyto komplexy vykazovaly vysokou aktivitu na linii Lewisovy rakoviny plic [11]. Obecně lze konstatovat, že kromě protinádorových komplexů platiny, byly studované komplexy iridia porovnávány v biologických účincích s komplexními sloučeninami ruthenia,

jelikož jejich chemie je podobná a komplexy ruthenia byla a stále jsou prozkoumanější z bioanorganického úhlu pohledu. Nelze všech obecně tvrdit, zda komplexy ruthenia nebo iridia jsou aktivnější, neboť jejich mechanismus účinku se podle současných poznatků liší.

Postupně se studium protinádorových komplexů iridia posunulo ke komplexům iriditým odvozeným od podobných sloučenin ruthenia. Syntetizovaly se iridité sloučeniny podobné NAMI-A, ale tyto komplexy nevykazovaly cytotoxicitu [14]. Následně se pozornost přesunula směrem k organoiriditým pseudooktaedrickým polosendvičovým komplexům (z angl. tzv. „piano-stool“ geometrie; viz. Obr. 6.) [24].



Obr. 6. Ir(III) komplex o složení $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^{\text{Ph}})(\text{en})\text{Cl}]^+$ představující tzv. „piano-stool“ geometrii (převzato z [24])

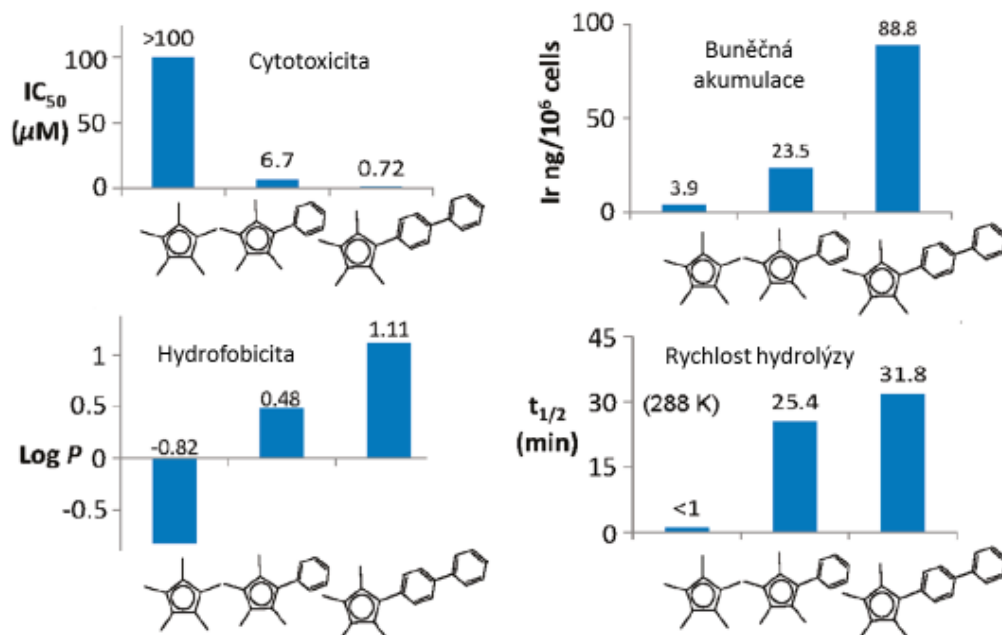
2.2.1 Vliv cyklopentadienylového kruhu na chování komplexu

Mnoho prací používá jako základní π -ligand 1,2,3,4,5-pentametylcyklopentadienylový anion (Cp^*) anion případně jeho deriváty, které v pseudooktaedrické geometrii těchto látek zabírají tři koordinační místa. Zbývá tři koordinační místa v komplexu jsou obsazena variabilně, a to především bidentátním N,N -; N,O - nebo C,N -chelatujícím ligandem v kombinaci s monodentátním ligandem (tím je většinou chloridový anion). Nebo naopak monodentátním ligandem (většinou N -donorovým) a dvěma dalšími ligandy jiného typu (většinou chloro ligandy v rámci dichloro komplexů) [10,13,20,24,25].

Cp^* ligand stabilizuje Ir(III) pomocí delokalizovaných vazeb, neutrální areny tuto vlastnost v případě Ir(III) nemají [10]. Stupeň π -delokalizovaných elektronů v ligandu

vzrůstá s metylací cyklopentadienylového kruhu (Cp) [26]. Následně tím Cp ligand podporuje kinetickou labilitu na *trans*-monodentátních ligandech, kterým je např. výše uvedený chloridový anion [19]. Tento ligand kromě stabilizační schopnosti ovlivňuje i další vlastnosti komplexu, jelikož je schopen reagovat jako elektronový donor i jako π -akceptor [24,27].

Bylo prokázáno několik charakteristických vlastností pro Ir(III) polosendvičové komplexy s Cp ligandy. Funkcionalizace Cp kruhu má vliv nejen na stabilizaci Ir(III), ale v důsledku výše zmíněného vlivu na monodentátní ligand, i na mnoho dějů, jako je hydrolyza, *pK*, interakce s DNA, hydrofobicita, buněčná akumulace, distribuce v buňce a v konečném výsledku má vliv na cytotoxicitu (Obr. 7.). Bylo prokázáno, že substituce na Cp kruhu značně ovlivňuje, dokonce i zlepšuje dříve zmíněné vlastnosti. Kromě toho Cp ligandy s vnějším aromatickým kruhem (např. fenylem (Cp^{ph}) nebo bifenylem (Cp^{biph})) zlepšují interkalaci do DNA, čímž přispívají k vyššímu cytotoxickému účinku komplexů obsahujících takovéto ligandy.



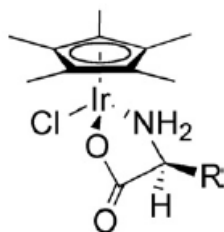
Obr. 7. Grafy znázorňující vliv substituce na Cp kruhu na cytotoxicitu, hydrofobicitu, buněčnou akumulaci a rychlost hydrolyzy pro komplexy $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^x)(\text{phen})\text{Cl}]^+$ ($x = \text{Cp}^*, \text{Cp}^{\text{ph}}, \text{Cp}^{\text{biph}}$) (převzato z [24] a upraveno)

Pět metylových skupin na Cp kruhu (metylová skupina je silný elektronový donor) způsobuje relativně rychlou hydrolýzu díky zvýšenému efektivnímu náboji na iridiu [24,28]. Následně byla prokázána i závislost na substituci Cp kruhu, kdy π -akceptorní substituenty snižují rychlost hydrolýzy vlivem snížené elektronové hustoty na Ir, a to v pořadí $\text{Cp}^{\text{biph}} < \text{Cp}^{\text{ph}} < \text{Cp}^*$ [24]. Taktéž bylo prokázáno, že komplexy tohoto typu s deriváty Cp interagují s nukleovými bázemi. Když byla studována právě závislost na substituovaném kruhu při reakcích s 9-ethylguaninem (9-EtG) a 9-metyladeninem (9-MeA), tak i přesto, že polosendvičové Ir(III) komplexy preferovaly vazbu ke guaninovým bázím, tak u sloučenin s Cp^{biph} byly zaznamenány i adukty k adeninu.

Pravděpodobněji nejdůležitější je zjištění, že substituce na Cp kruhu vede ke zvýšení cytotoxicity. Opět platí, že čím více je Cp kruh substituován, tím je komplex více cytotoxický, a to opět v pořadí $\text{Cp}^{\text{biph}} > \text{Cp}^{\text{ph}} > \text{Cp}^*$, jak bylo popsáno pro komplexy s *N,N*-chelatujícími ligandy ethylendiaminem (en), 2,2'-bipyridinem (bipy), 1,10-fenantrolinem (phen). Pro příklad lze uvést sérii komplexů s (phen) ligandem, kdy komplex obsahující Cp^* ligand, nebyl na linii rakoviny vaječníků A2780 účinný, ale jeho analogy s 1-fenyl-2,3,4,5-tetrametylcyklopentadienylem (Cp^{ph}), resp. 1-bifenyl-2,3,4,5-tetrametylcyklopentadienylem (Cp^{biph}) prokázaly vzrůstající antiproliferační efekt (Obr. 7.) [3,24,29].

Se zvýšenou cytotoxicitou koreluje i zvýšená hydrofobicita, tedy platí stejná závislost – čím více je substituován Cp kruh, tím je vyšší hydrofobicita v pořadí $\text{Cp}^{\text{xbiph}} > \text{Cp}^{\text{xph}} > \text{Cp}^*$. Tato vlastnost je pro chemoterapeutika obecně známá jako potřebná pro prostupnost do buňky z extracelulárního prostoru přes buněčnou membránu (tzv. buněčnou akumulaci) a transport komplexu až do jádra případně k jiným buněčným cílům. Z těchto poznatků i pro protinádorově aktivní Ir(III) komplexy plyne, že buněčná akumulace ovlivňuje i míru cytotoxicity.

Mimo výše uvedené protinádorově aktivní polosendvičové Ir(III) komplexy lze uvést taktéž látky podobného složení, které vykazovaly antimykotickou aktivitu vůči některým druhům mykobakterií. Takovou látkou je např. polosendvičový chloroiriditý komplex, v němž je na centrální atom bidentátně navázána aminokyselina (např. fenylalanin) jako *N,O*-donorový ligand. Takovéto látky lze pokládat za příslib pro léčbu netuberkulárních mykobakterií (Obr. 8.) [30].



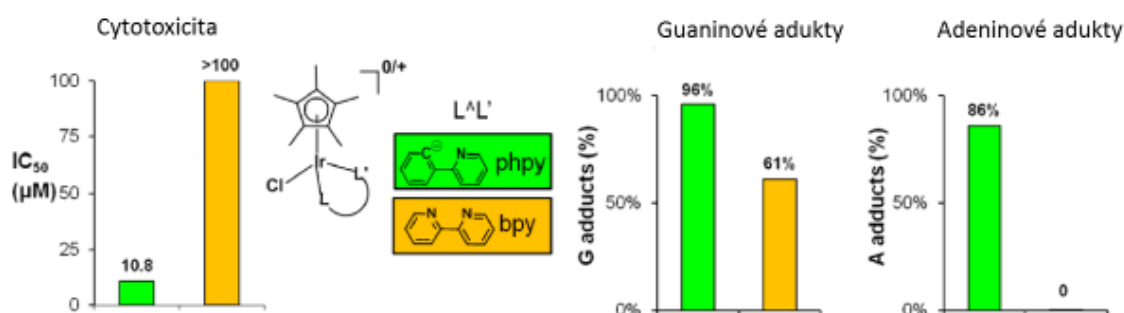
Obr. 8. Obecný strukturní vzorec komplexů $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{RNH}_2\text{COO})\text{Cl}]$ (převzato z [30])

2.2.2 Vliv chelatujících ligandů na chování Ir(III) polosendvičových komplexů

Chování pseudooktaedrických polosendvičových komplexů iridia ovlivňují nejen deriváty Cp ligandu (viz výše), ale i další ligandy přítomny v komplexu. Bylo nasyntetizováno mnoho odlišných polosendvičových Ir(III) komplexů s různými deriváty Cp kruhu v kombinaci s různými bidentátními chelatujícím ligandy, o kterých bylo zjištěno, že mají vliv na cytotoxicitu a specifitu DNA bází, jak bylo publikováno i pro analogické Ru(III) komplexy [28]. Zajímavé vlastnosti vykazovaly např. komplexy o strukturním vzorci $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{L}^1)\text{Cl}_2]$ ($\text{L}^1 = \text{Ph}_2\text{PCH}_2\text{S}(\text{O})_x\text{Ph-}\kappa\text{P}$; $x = 0, 1, 2$), které vykazovaly mikromolární hodnoty IC_{50} ($\text{IC}_{50} = 3,5 \mu\text{M}$) v případě linií 8505C (linie rakoviny štítné žlázy) [31]. Různě substituované pikolinamidové ligandy chlorem, či fluorem vykazovaly aktivitu na linii A2780, přičemž bylo prokázáno, že účinnost byla ovlivněna polohou a mírou zmíněných substituentů [32]. Taktéž komplexy s bidentátními *N,N*-donorovými ligandy na bázi bithiazolu vykazují dobré výsledky pro linii karcinomů prsu ($\text{IC}_{50} = 17,22 \mu\text{M}$) [33]. Komplexy s *N,O*-donorovými 1,2-naftochinon-1-oximato ligandy jsou mnohem aktivnější na linii HeLa (buněčná line rakoviny děložního čípku) a HL60 (buněčná line promyeloidní leukémie) než cisplatinu [34].

Velmi zajímavé a přínosné do dalších výzkumů jsou výsledky srovnání neutrálního *N,N*-donorového (phen) a aniontového *C,N*-donorového (7,8-benzochinon; bq) ligandu. Komplex $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{bq})\text{Cl}]$ byl výrazně aktivnější na liniích A2780 i A2780cisR (linie rakoviny vaječníku, která je vrozeně rezistentní na cisplatinu) ($\text{IC}_{50} = 1,33 \mu\text{M}$ pro linii A2780cisR), tak i na MCF-7 (buněčná line karcinomu prsu), kdežto komplex $[\text{Ir}(\eta^5\text{-$

$\text{Cp}^*(\text{phen})\text{Cl}]^+$ vykazoval hodnotu $\text{IC}_{50} >100 \mu\text{M}$ [18]. Podobné srovnání bylo provedeno i pro komplexy obsahující N,N -chelatuující ligand (bipy) resp. C,N -chelatuující ligand 2-fenylpyridin (phpy). V tomto případě se změnila hodnota $\text{IC}_{50} >100 \mu\text{M}$ pro $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{bipy})\text{Cl}]^+$ na $\text{IC}_{50} = 0,8 \mu\text{M}$ pro $[\text{Ir}(\eta^5\text{-C}_5\text{Me}_5)(\text{phpy})\text{Cl}]$ (Obr. 9.). Podobně i komplexy s jinými N,N -chelatuujícími ligandy (en, phen) a N,O -donorovým pikolinátovým aniontem byly v případě Cp^* komplexů neaktivní na linii A2780 [28]. Dalším zjištěním je výrazně vyšší schopnost tvorby aduktů s 9-MeA pro komplexy s C,N -chelatuujícími ligandy, což se u komplexů s N,N -donorovými ligandy prakticky neděje (Obr. 9) [35].



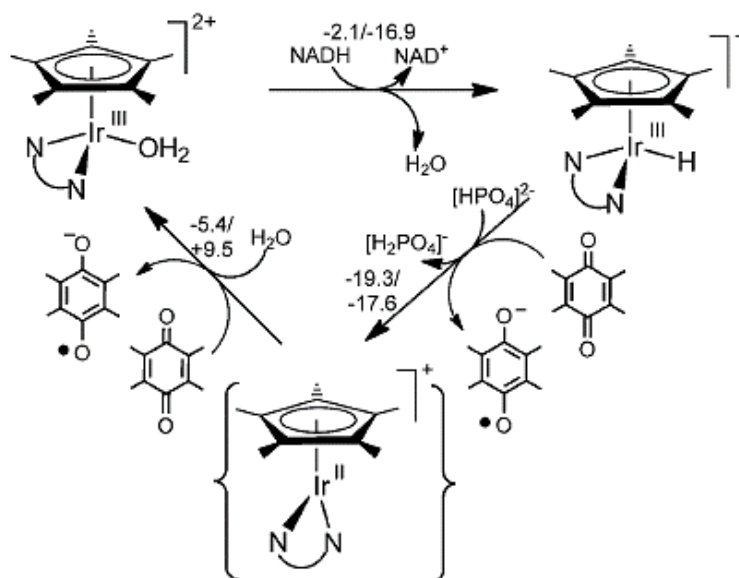
Obr. 9. Grafy ukazující vliv chelatuujícího ligandu na míru cytotoxicity a tvorbu guaninových a adeninových aduktů v DNA (převzato z [35] a upraveno)

Kromě výše uvedených typů antiproliferační aktivity může být zde zmíněn i další typ biologické aktivity, který byl úspěšně pro polosendvičové cyklopentadienylové iridité komplexy. Např. komplexní sloučeniny s ferrocenyl salicyldiamino ligandy vážícími se bidentátně jako N,N -donorové ligandy na centrální atom (iridium) byly vysoce účinné na *P. falciparum* způsobující malárii [36]. Je tedy zřejmé, že chemie polosendvičových iriditých komplexů je velmi rozmanitá se širokou působností na poli biologických účinků.

2.2.3 Komplexy Ir(III) jako potenciální biologické katalyzátory

Komplexy iridia byly také studovány jako katalyzátory nebo biokatalyzátory např. k redukci aldehydů, kde tyto látky vystupovaly v roli přenašeče hydridového aniontu

[37], resp. akceptoru H^+ iontů z NADH [27]. Když tato schopnost byla potvrzena, pozornost se přesunula ke studiu možností působení těchto organometalických komplexy oxidovat NADH na NAD^+ bez přítomnosti enzymů (NADH/ NAD^+ hrají důležitou roli při metabolických procesech v organizmech), a tedy terapeuticky působit např. na nádorové buňky odlišným mechanismem účinku od konvenčně používaných léčiv na bázi platiny. Důvodem k těmto pokusům vede snaha o modulaci redoxního statusu buněk jako potenciálního cíle pro léčiva bez přítomnosti právě nutných enzymů k dané redukci a pro biogenní hydrogenační reakce. Přenos elektronu byl zkoumán i na vitamínu K_3 , který je vyžadován pro syntézu proteinů žádaných v krevní koagulaci a metabolických drah ve tkáních. Toto bylo studováno a prokázáno pro redukci chinonové část vitamínu K_3 na semichinon přes hydridový přenos NADH pomocí polosendvičového cyklopentadienylového iriditého komplexu (Obr. 10. [38]. Předpokládá se, že mechanismus funguje tak, že koordinace Cp kruh poklesne z η^5 na η^3 , což umožní koordinaci vodíkového kationtu, a tím se vytvoří stabilní hydrido komplex [39]. Další z teorií je, že samotný centrální atom, iridium, se vyskytuje v nezvyklém oxidačním stavu Ir(II) [38].



Obr. 10. Jeden z možných mechanismů polosendvičových cyklopentadienylových iritých komplexů při oxidaci NADH (převzato z [38])

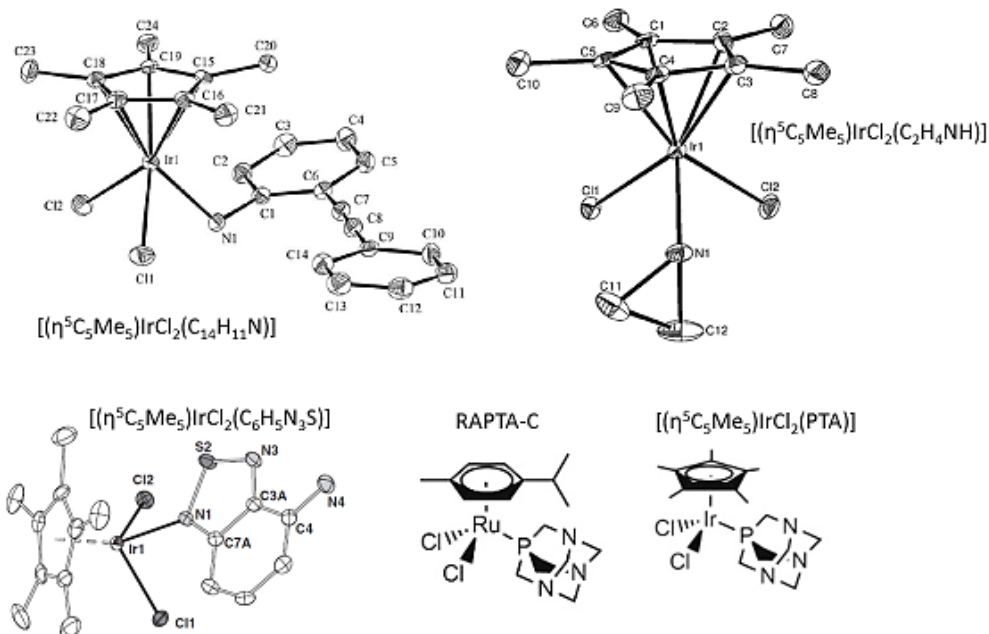
2.2.4 Dichloro polosendvičové komplexy

Jedním z výše zmíněných směrů výzkumů protinádorových léčiv na bázi neplatinoých přechodných kovů se zabývá studiem dichloro komplexů. Je to dáno poměrně výrazným úspěchem a vysokou aktivitou organokovových polosendvičových dichlororuthenitých komplexů, jako je především komplex s *P*-donorovým 1,3,5-triaza-7-fosfatricyklo-[3.3.1.1]dekanem (PTA). Komplex s arenovým ligandem koordinovaným na centrální atom ruthenia (neboli RAPTA; Obr. 11) účinkují *in vitro* spíše na molekulární cíle než na samotnou DNA. Byly prokázány účinky na katepsin B, což je proteáza podílející se na degradaci proteinů. V mnoha rakovinných liniích dochází k expresi katepsinu B. Podílí se na zvýšené transkripci, stabilitě nádoru a tvorbě metastáz [40]. Připravené iriditické komplexy podobného charakteru jako RAPTA, avšak s Cp* kruhem např. komplex $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{PTA})\text{Cl}_2]$ vykazoval hodnotu $\text{IC}_{50} > 300 \mu\text{M}$, tudíž nebyl aktivní na linii A2780.

Pro podobné komplexy iridia avšak s cyklopentadienylovým ligandem a se dvěma chloridovými anionty bylo prokázáno, že právě tyto Cl⁻ ionty se mohou ve vodném prostředí odštěpit a být pomocí ligandové výměny nahrazeny molekulami vody, což opět poukazovalo na skutečnost, že ne všechny komplexy Ir(III) komplexy jsou kineticky stabilní [41]. Další zajímavou vlastností těchto komplexů je opět jejich schopnost katalýzy, kdy např. komplex $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{L}^2)\text{Cl}_2]$ ($\text{L}^2 = \text{anilin-}\kappa\text{N}$) (Obr. 11.) a jeho dinukleární analog spolu s acetonem hrají důležitou roli při přenosu H⁺ iontu. Bylo potvrzeno, že iridium se při tomto ději redukuje na méně obvyklý oxidační stav +II [23].

Dosud byly připraveny a biologicky studovány různé typy dichloro polosendvičových iriditických komplexů. Dvojjaderné komplexy s bidentátními *N*-donorovými ligandy např. vykazovaly zajímavé biologické vlastnosti na línii karcinomu prsu a ovarií, kdy jejich aktivita byla mnohem lepší než v případě oxaliplatina (linie A2780: $\text{IC}_{50} = 2,4 \mu\text{M}$, línii MDA-MB-231: $\text{IC}_{50} = 8,99 \mu\text{M}$). Tyto komplexy také podporují akumulaci proteinu p53, což je jeden z hlavních mediátorů apoptózy [14]. Dále byly studovány komplexy typu: $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{L}^2)\text{Cl}_2]$ ($\text{L}^2 = \text{chinin}$) byl s přes atom dusíku monodentátně koordinovaným chininem (obvykle se chinin užívá při antimalarické profylaxii) [42]. Byly studovány i reakce polosendvičových iriditických komplexů $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{C}_2\text{H}_4\text{NH})\text{Cl}_2]$ s aziridiny, kdy tyto ligandy vykazují protirakovinnou aktivitu

(Obr. 11.) [43]. Mononukleární i dinukleární komplexy iridia s mono, respektive bidentátními *N*-donorovými deriváty 2,1,3-benzothiadiazolu by mohly být příslibem pro další studium jejich luminiscenčních a redoxních vlastností, jelikož 2,1,3-benzothiadiazolové deriváty jsou dnes užívány jako součástky v diodách (OLED = organic light-emitted diode) [44].



Obr. 11. Příklady některých dichloro komplexů přechodných kovů (převzato ze [23,40, 43,44])

2.2.5 Mechanismus účinku iriditých komplexů

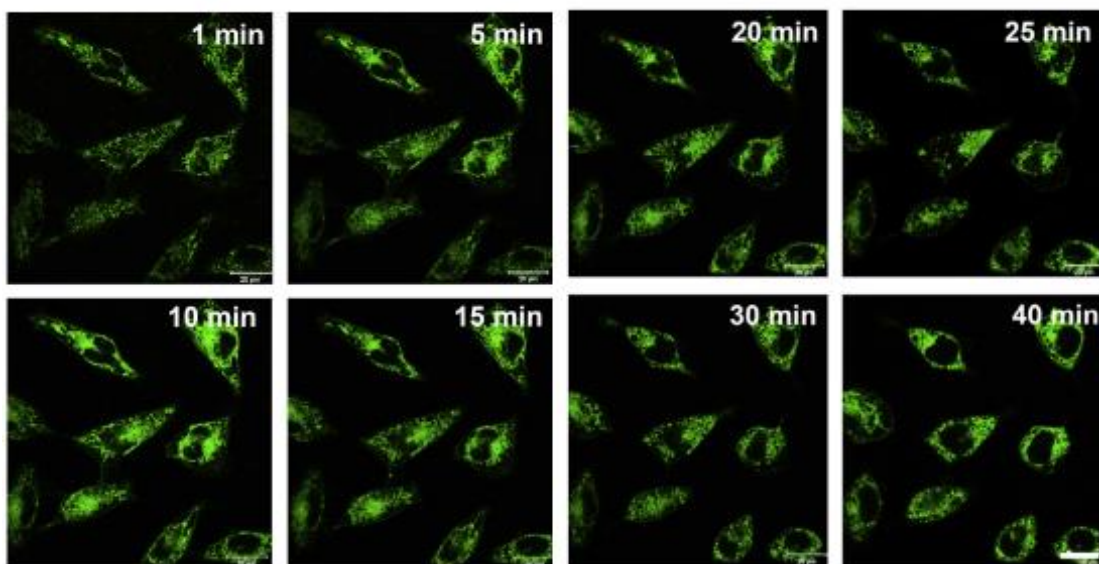
Bioanorganická a medicínální chemie protinádorově aktivních komplexů iridia je relativně mladá, i proto se dosud ví se o mechanismu účinku těchto látek méně než v případě více než půl století studované cisplatinou. Ukazuje se, že mechanismus v tomto případě zcela nekoreluje s cisplatinou ani oxaliplatinou, pro které lze velmi zjednodušeně říci, že jejich mechanismus sestává z následujících stěžejních kroků: aktivace hydrolyzou s následnou tvorbou aduktů s jadernou DNA, která vede k potlačení buněčného dělení a buněčné smrti [25]. Jinak řečeno, primárním cílem léčiv na bázi platiny je DNA.

DNA byla prokázána jako jeden z cílů pro působení Ir(III) komplexů, avšak nemusí být primárním cílem účinku. Nicméně je patrné, že účinek protinádorově aktivních komplexů na bázi iridia představuje o multikrokový kaskádovitý proces [25].

Ir(III) komplexy se do buněk dostávají nejpravděpodobněji pasivním i aktivním transportem, ATP-dependentní přenos, který je významně ovlivněn teplotou. Některé studie uvádějí, že přenos komplexu je způsoben CTR1 přenašeči stejně jako v případě cisplatinu. Buněčný transport hraje velmi významnou roli při akumulaci komplexu v buňce, což ovlivňuje následnou cytotoxicitu [18,45,46]. S buněčným příjmem souvisí i buněčný výdej, který je spojován s rezistencí nádorových buněk vůči aplikovaným léčivům. Avšak u protinádorově aktivních komplexů iridia se prokázalo, že tyto látky nejsou tak snadno eliminovány z léčených buněk, a i po 24 h je až 60 % látky stále naakumulováno v buňce [45]. Hydrofobicita protinádorově aktivních polosendvičových iriditých komplexů je další rozhodující faktor, který souvisí s mírou buněčné akumulace, a tím i přeneseně s mírou antiproliferačních vlastností komplexů. Přes cytoplazmatickou membránu obecně procházejí (pasivní difúzí) lipofilní látky mnohem snáze než ty lipofobní. To má za následek, že lipofilní komplexy nahromaděné v membráně mohou následně interagovat s membránovými proteiny.

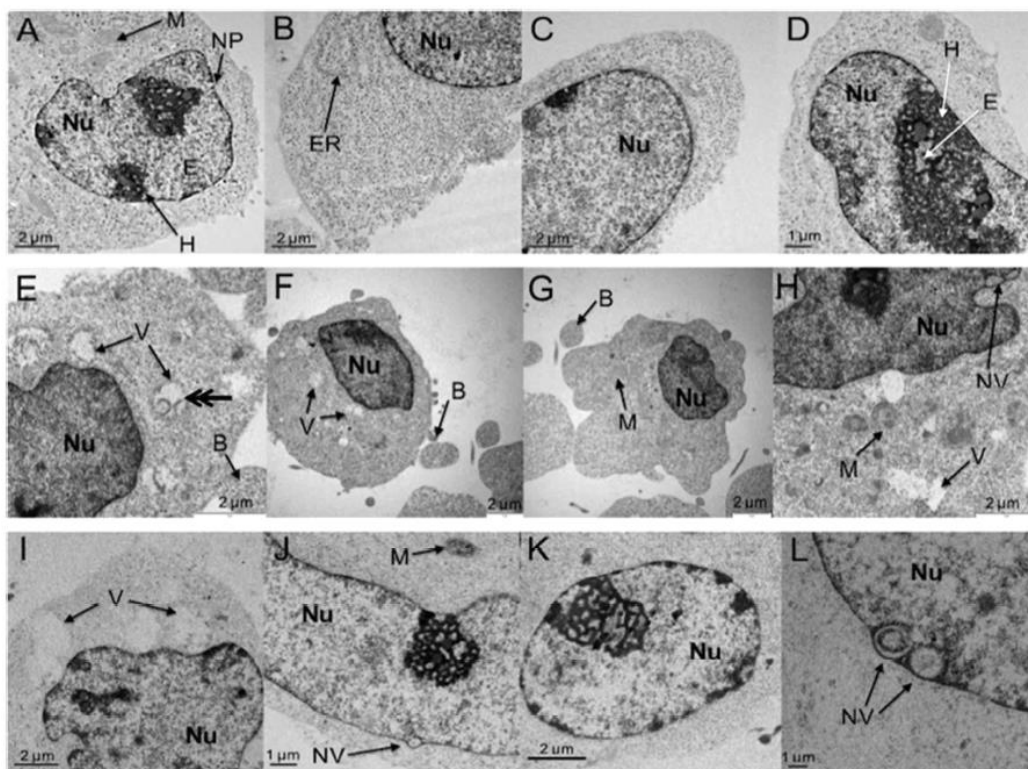
Významným objevem se stal fakt, že protinádorově účinné Ir(III) komplexy vykazují silnou specifitu pro mitochondrie. Bylo pozorováno, že v některých případech více než 87 % aplikovaného Ir(III) komplexu bylo naakumulováno právě v mitochondriích a jen necelých 7 % v jádře [24,47]. Mitochondrie jsou významnou semiautonomní buněčnou organelou. Můžeme je považovat za primární buněčné metabolické centrum. Se změnou morfologie souvisí změny v metabolických procesech, apoptózu, makroautofagii. Cytostatika obvykle nepřímo endogenně ovlivňují mitochondrie, což představuje podnět vyvolávající apoptický proces. Kdežto cílené mitochondriální látky naruší energetický systém rakovinných buněk, tvorbu reaktivních forem kyslíku (z angl. Reactive Oxygen Species, ROS) a následnou buněčnou smrt závislou právě na mitochondriích [48]. Ve zdravých buňkách je hladina ROS, které vznikají přirozeně jako vedlejší produkt při kyslíkově závislých metabolických drahách snižována přítomností přirozeného intracelulárního antioxidantu GSH [1,16]. V rakovinných buňkách je naopak hladina ROS zvýšená díky změnám membránovému potenciálu vlivem oxidativního stresu (jedná se o poruchu, kdy je narušena rovnováha mezi oxidantem a antioxidantem a

převládá oxidant) [21]. Vysoká hladina ROS může mít destruktivní charakter právě na membránu mitochondrie [46,49]. Změna morfologie mitochondrií se projevovала tak, že se nejprve objevila granula, následně mitochondrie bobtnaly (tzv. mitochondriální otok), což naznačuje narušení jejich membrány (Obr. 12.). V některých případech se dokonce zdá, že je vnější membrána zachována, ale vnitřní už mitochondrie zcela postrádá [25]. Proapoptické proteiny z mitochondrií aktivují tzv. kaspázovou kaskádu, která řídí počáteční fázi apoptózy, což je stejné jako v případě cisplatiny [21,25,34,48].



Obr. 12. Změny v mitochondriální morfologii prováděny v reálném čase způsobené $[\text{Ir}(\text{phpy})_2(\text{L}^3)]$ ($\text{L}^3 = 1,10\text{-methylenbis}(3\text{-butyl-1H-imidazol-3-ium})$), kdy se objevují granula (převzato z [48])

Jak již bylo naznačeno, aktivita polosendvičových iriditých komplexů se prozatím jeví jako komplexní proces, jehož součástí je také interakce s DNA. Ta zřejmě spočívá v principu interkalace (vmezeření) cyklopentadienylových ligandů (především jejich aromatických substituentů Cp^{biph} a Cp^{ph} , viz výše) do DNA, které způsobí její distorzi (zkroucení) [3].



Obr. 13. Detekce apoptózy na lidské linii karcinomu vaječníku A2780 po léčbě komplexem $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^{\text{biph}})(\text{phen})\text{Cl}]^+$. A–D jsou kontrolní buňky s heterochromatinovou (H) a euchromatinovou (E) distribucí, mitochondrie (M), jaderné póry (NP), drsné endoplazmatické retikulum (ER). E–H buňky po 24 h, kdy byly vystaveny $1 \mu\text{M}$ koncentraci komplexu. Dochází k otokům mitochondrií (V), tvorbě jaderných vakuol (NV) a tvorbě membránových záhybů (B). I–L jsou buňky vystaveny $5 \mu\text{M}$ koncentraci komplexu také po dobu 24 h, vykazují abnormální distribuci chromatinu a pokročilou tvorbu vakuol (převzato z [25])

Druhý způsob je přímá koordinace s nukleovými bázemi. Stejně jako v případě cisplatiny převládá vazba k nukleové bázi guaninu. Zajímavé je, že pro komplexy s *N,N*-chelataujícími ligandy (např. $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*) (\text{bipy})\text{Cl}]^+$) bylo zjištěno, že tvoří adukt přes atom N7 u guaninu, zatímco analogy s *C,N*-donorovými ligandy (např. $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*) (\text{phpy})\text{Cl}]$) byly prokázány jak N7-koordinace ke guaninu, tak i vznik vazby k adeninu přes atom N1 a N7, kdy vazba k atomu N1 je považována za hlavní adukt. I zde platí, že guaninový adukt je silnější a afinita komplexu k této bázi větší [3,28]. Po navázání se na báze DNA dojde k pozastavení replikační funkce a k mismatch opravám

(korekce správného párování bází). Pokud buňka nedokáže poškození opravit, nastává také aktivace apoptického procesu (Obr. 13.). Dle některých výzkumů se buňka zastavila v G1 fázi [21,50], což je rozdíl oproti cisplatině, která pozastavuje buněčné dělení v G2 fázi.

3 Experimentální část

3.1 Chemikálie a přístroje

N-donorové ligandy: 3-jod-7-azaindol (*3Iaza*; 95%), 4-chlor-7-azaindol (*4Claza*; 97%), 5-brom-7-azaindol (*5Braza*; 97%), 5-brom-3-chlor-7-azaindol (*3Cl5Braza*; 96%), 5-brom-3-jod-7-azaindol (*3I5Braza*; 97%), 5-fluor-7-azaindol (*5Faza*; 95%), 3-chlor-7-azaindol (*3Claza*; 97%) (Sigma-Aldrich, Fisher Scientific, Acros Organics).

Rozpouštědla: methanol (MeOH; $\geq 99,5\%$) diethylether (Et₂O; $\geq 99\%$), dichlormethan ($\geq 99,5\%$) (Fisher Scientific, Lach-ner).

Ostatní chemikálie: hydrátovaný chloridu iriditého (IrCl₃·xH₂O; 99,9%), 1,2,3,4,5-pentametylcyklopentadien (HCp*^{*}; 95%) (Sigma-Aldrich, Acros Organics)

Elementární analýza (C, H, N) byla provedena na přístroji Flash 2000 CHNS Analyzátor (Thermo Scientific) pro **1–7**.

¹H NMR spektroskopie a ¹H–¹H-COSY byly pro **1–7** provedeny na přístroji JNM-ECA600II (JEOL) při frekvenci 600 MHz a teplotě 300 K. Pro komplex **7** byla provedena také ¹³C NMR spektroskopie a příslušné 2D experimenty (¹H–¹³C-HMQC, ¹H–¹³C-HMBC) potřebné pro přiřazení atomů uhlíků. Studované látky byly rozpuštěny v CDCl₃, v případě komplexu **7** i v DMSO-*d*₆. V případě štěpení signálů ¹H definujeme: s = singlet, d = dublet, dd = dublet dubletů, t = triplet, m = multiplet. Pomocí NMR spektrometrie byla taktéž studována stabilita komplexu **7** (viz níže).

K provedení hmotnostní spektrometrie technikou ionizace elektrosprejem v kladném (ESI+) a v záporném (ESI-) modu byl použit přístroj LCQ Fleet od společnosti Thermo Scientific. Komplexy byly rozpuštěny v metanolu.

Infračervená spektroskopie (FT-IR) byla provedena pomocí přístroje FT-IR spektrometru Nexus 670 (ThermoNicolet). Měřená oblast vlnočtů byla v rozsahu 4000–400 cm⁻¹ (mid-IR).

Mikrovlnný reakční systém Monowave 300 (Anton Paar) byl použit pro syntézu výchozího Ir(III) dimeru [Ir(μ-Cl)Cp*Cl]₂.

3.2 Syntéza polosendvičových Ir(III) komplexů s deriváty 7-azaindolu

3.2.1 Syntéza $[\text{Ir}(\mu\text{-Cl})\text{Cp}^*\text{Cl}]_2$

Syntéza $[\text{Ir}(\mu\text{-Cl})\text{Cp}^*\text{Cl}]_2$ vycházela z dříve publikované syntézy [51]. Do reakční vialky pro mikrovlnný syntetizátor bylo dáno 250 mg hydrátovaného chloridu iriditého ($M = 298,58 \text{ g.mol}^{-1}$, $n = 0,69 \text{ mmol}$), ke kterému byl přidáno 10 ml methanolu. Vznikla zelenohnědá suspenze, ke které bylo následně přidáno 340 μl 1,2,3,4,5-pentametylcyklopentadienu (HCp^* ; $M = 136,23 \text{ g.mol}^{-1}$, $n = 2,17 \text{ mmol}$). Samotná syntéza (viz Schéma 1.) probíhala v mikrovlnném syntetizátoru za těchto podmínek: reakční doba byla nastavena na 3 minuty a teplota byla 140 °C. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla vzniklá oranžová suspenze přefiltrována přes fritu (S4) a odizolovaný produkt byl opakovaně promyt metanolem a diethyleterem. Výťažnost několikrát opakované reakce byla 65–75 %.

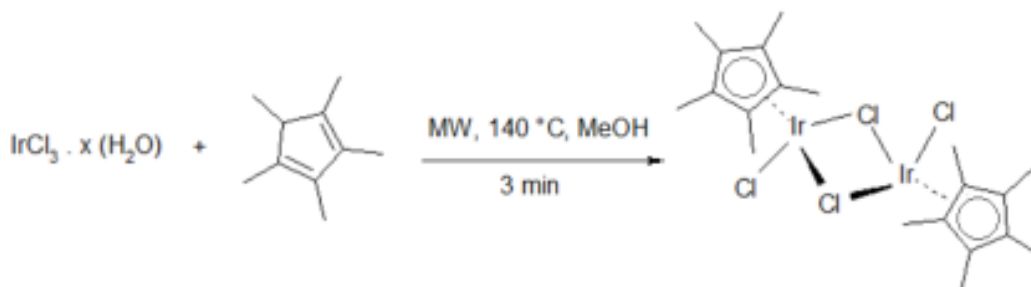


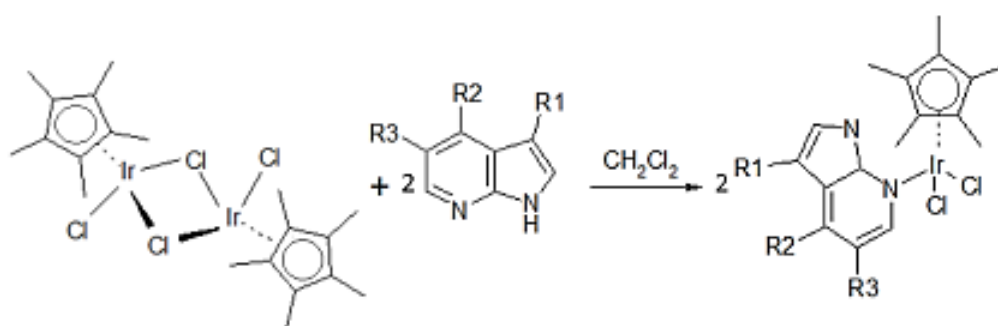
Schéma 1. Schéma syntézy výchozího Ir(III) komplexu $[\text{Ir}(\mu\text{-Cl})\text{Cp}^*\text{Cl}]_2$.

3.2.2 Syntéza polosendvičových iriditých komplexů 1–7

Syntéza komplexů obecného složení $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{naza})\text{Cl}_2]$, kde *naza* symbolizuje *3Iaza* ($M = 244,03 \text{ g.mol}^{-1}$), *4Claza* ($M = 152,58 \text{ g.mol}^{-1}$), *5Braza* ($M = 197,03 \text{ g.mol}^{-1}$), *3Cl5Braza* ($M = 231,42 \text{ g.mol}^{-1}$), *3I5Braza* ($M = 322,93 \text{ g.mol}^{-1}$), *5Faza* ($M = 136,18 \text{ g.mol}^{-1}$), nebo *3Claza* ($M = 152,58 \text{ g.mol}^{-1}$), probíhala za laboratorní teploty. Výchozí Ir(III) dimer $[\text{Ir}(\mu\text{-Cl})\text{Cp}^*\text{Cl}]_2$ ($M = 796,7 \text{ g.mol}^{-1}$, $n = 0,1 \text{ mmol}$, $m = 79,7 \text{ mg}$) byl rozpuštěn v 5 ml dichlormethanu. Zvlášť byl v 5 ml dichlormethanu rozpuštěn příslušný *naza* derivát, kdy jeho množství odpovídalo dvou molárním

ekvivalentům vůči $[\text{Ir}(\mu\text{-Cl})\text{Cp}^*\text{Cl}]_2$ (tj. 0,2 mmol). Roztoky byly smíchány, okamžitě byla u všech syntéz patrná změna zbarvení z oranžové (roztok Ir(III) dimeru) na jasně žlutou barvu produktů. Vzniklý roztok se nechal 15 min intenzivně míchat, a poté bylo částečně odpařeno rozpouštědlo, čímž došlo k vyloučení žlutých produktů o složení $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(3\text{Iaza})\text{Cl}_2]$ (**1**), $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(4\text{Claza})\text{Cl}_2]$ (**2**), $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(5\text{Braza})\text{Cl}_2]$ (**3**), $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(3\text{Cl}5\text{Braza})\text{Cl}_2]$ (**4**), $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(3\text{I}5\text{Braza})\text{Cl}_2]$ (**5**), $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(5\text{Faza})\text{Cl}_2]$ (**6**), $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(3\text{Claza})\text{Cl}_2]$ (**7**), který byl posléze odfiltrován a promyt metanolem a diethyletherem (viz Schéma 2.). Výtěžek vzniklých komplexů byl: **1** – 63,8 %, **2** – 65,5 %, **3** – 79,5 %, **4** – 44,3 %, **5** – 91,8 %, **6** – 85,1 %, **7** – 96,9 %.

Bohužel se nepodařilo vypěstovat ani u jedné sloučeniny monokrystal vhodný pro monokrystalovou rentgenovou strukturní analýzu.



Komplex	R1	R2	R3
$[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(3\text{Iaza})\text{Cl}_2]$ (1)	I	H	H
$[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(4\text{Claza})\text{Cl}_2]$ (2)	H	Cl	H
$[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(5\text{Braza})\text{Cl}_2]$ (3)	H	H	Br
$[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(3\text{Cl}5\text{Braza})\text{Cl}_2]$ (4)	Cl	H	Br
$[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(3\text{I}5\text{Braza})\text{Cl}_2]$ (5)	I	H	Br
$[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(5\text{Faza})\text{Cl}_2]$ (6)	H	H	F
$[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(3\text{Claza})\text{Cl}_2]$ (7)	Cl	H	H

Schéma 2. Schéma syntézy $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(naza)\text{Cl}_2]$ komplexů (**1-7**) včetně tabulky s přehledem substituentů používaných derivátů 7-azaindolu (*naza*)

[Ir(η^5 -Cp*)(3Iaza)Cl₂] (1): ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃, 300 K): δ 11,37 (s, N1-H), 8,67 (d, $J = 4,1$ Hz, C6-H), 7,78 (d, $J = 7,6$ Hz, C4-H), 7,44 (s, C2-H), 7,21 (t, $J = 6,5$ Hz, C5-H), 1,49 (s, Cp*-H₁₅) ppm. ESI+ MS (methanol): 761,1 (761,1; 100%; [Ir₂(Cp*)₂Cl₃]⁺), 727,3 (727,1; 40%; {[Ir₂(Cp*)₂Cl₂]+H}⁺), 693,3 (693,1; 60%; {[Ir₂(Cp*)₂Cl]+2H}⁺), 657,4 (657,2; 65%; {[Ir₂(Cp*)₂]+3H}⁺), 607,0 (607,0; 45%; [Ir(Cp*)(3Iaza)Cl]⁺), 571,3 (571,0; 10%; {[Ir(Cp*)(3Iaza)]-H}⁺), 363,3 (363,1; 40%; [Ir(Cp*)Cl]⁺), 245,1 (245,0; 20%; {(3Iaza)+H}⁺) m/z . ESI- MS (methanol): 641,0 (641,0; 80%; {[Ir(Cp*)(3Iaza)Cl₂]-H}⁻), 433,2 (433,0; 20%; [Ir(Cp*)Cl₃]⁻), 397,5 (397,0; 5%; {[Ir(Cp*)Cl₂]-H}⁻), 243,3 (242,9; 100%; {(3Iaza)-H}⁻) m/z . IR (ν_{ATR}/cm^{-1}): 458w, 474w, 496m, 567m, 593m, 613m, 653m, 763m, 785w, 809s, 852m, 977s, 1028s, 1078m, 1100m, 1126m, 1157w, 1194w, 1270vs, 1313s, 1325vs, 1358w, 1376m, 1401m, 1428s, 1448m, 1484m, 1500w, 1587s, 1980w, 2019w, 2030w, 2161w, 2858w, 2918m, 3005w, 3035w, 3080s, 3269s, 3730w, 3744w, 3815w, 3848w, 3803w.

[Ir(η^5 -Cp*)(4Claza)Cl₂] (2): ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃, 300 K): δ 11,22 (s, N1-H), 8,51 (d, $J = 4,8$ Hz, C6-H), 7,34 (s, C2-H), 7,14 (d, $J = 5,5$ Hz, C5-H), 6,62 (s, C3-H), 1,47 (s, Cp*-H₁₅) ppm. ESI+ MS (methanol): 761,1 (761,1; 100%; [Ir₂(Cp*)₂Cl₃]⁺), 727,3 (727,1; 45%; {[Ir₂(Cp*)₂Cl₂]+H}⁺), 693,4 (693,1; 75%; {[Ir₂(Cp*)₂Cl]+2H}⁺), 657,4 (657,2; 65%; {[Ir₂(Cp*)₂]+3H}⁺), 515,1 (515,1; 25%; [Ir(Cp*)(4Claza)Cl]⁺), 479,3 (479,1; 10%; {[Ir(Cp*)(4Claza)]-H}⁺), 363,3 (363,1; 40%; [Ir(Cp*)Cl]⁺), 153,1 (153,0; 10%; {(4Claza)+H}⁺) m/z . ESI- MS (methanol): 549,2 (549,0; 50%; {[Ir(Cp*)(4Claza)Cl₂]-H}⁻), 433,2 (433,0; 45%; [Ir(Cp*)Cl₃]⁻), 397,5 (397,0; 10%; {[Ir(Cp*)Cl₂]-H}⁻), 151,2 (151,0; 25%; {(4Claza)+H}⁺) m/z . IR (ν_{ATR}/cm^{-1}): 426w, 461w, 504w, 537w, 584m, 601m, 641w, 658w, 725s, 780m, 819m, 853m, 876w, 907w, 951s, 1031s, 1066m, 1102m, 1160w, 1194s, 1213m, 1256m, 1303vs, 1340s, 1378m, 1424s, 1451s, 1480s, 1501m, 1578vs, 1599m, 1751w, 1897w, 1983w, 2035w, 2052w, 2112w, 2164w, 2200w, 2323w, 2731w, 2918s, 2974m, 3089m, 3141m, 3287vs, 3643w, 3744w, 3795w, 3815w, 3831w, 3848w, 3863w, 3899w, 3927w.

[Ir(η^5 -Cp*)(5Braza)Cl₂] (3): ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃, 300 K): δ 11,21 (s, N1-H), 8,69 (s, C6-H), 8,07 (s, C4-H), 7,35 (s, C2-H), 6,50 (s, C3-H), 1,49 (s, Cp*-H₁₅) ppm. ESI+ MS (methanol): 761,0 (761,1; 50%; [Ir₂(Cp*)₂Cl₃]⁺), 727,1 (727,1; 25%; {[Ir₂(Cp*)₂Cl₂]+H}⁺), 693,2 (693,1; 100%; {[Ir₂(Cp*)₂Cl]+2H}⁺), 657,3 (657,2; 50%; {[Ir₂(Cp*)₂]+3H}⁺), 558,9 (559,0; 5%; [Ir(Cp*)(5Braza)Cl]⁺), 523,1 (523,0; 5%;

{[Ir(Cp*)(5Braza)]-H}⁺), 363,1 (363,1; 50%; [Ir(Cp*)Cl]⁺), 197,1 (197,0; 5%; {(5Braza)+H}⁺) *m/z*. ESI- MS (methanol): 594,9 (595,0; 30%; {[Ir(Cp*)(5Braza)Cl₂]-H}⁻), 557,1 (557,0; 30%; {[Ir(Cp*)(5Braza)Cl]-2H}⁻), 433,0 (433,0; 50%; [Ir(Cp*)Cl₃]⁻), 397,3 (397,0; 30%; {[Ir(Cp*)Cl₂]-H}⁻), 195,2 (195,0; 50%; {(5Braza)-H}⁻) *m/z*. IR ($\nu_{\text{ATR}}/\text{cm}^{-1}$): 467m, 601w, 664w, 696m, 750s, 798m, 888m, 934m, 1028s, 1064m, 1091s, 1157w, 1190w, 1292vs, 1335m, 1378m, 1416m, 1465s, 1498w, 1574m, 1592w, 2919m, 2977m, 3038w, 3073m, 3103m, 3133w, 3280vs.

[Ir(η^5 -Cp*)(3Cl5Braza)Cl₂] (4): ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃, 300 K): δ 11,28 (s, N1-H), 8,74 (s, C6-H), 8,10 (s, C4-H), 7,33 (s, C2-H), 1,50 (s, Cp*-H15) ppm. ESI+ MS (methanol): 761,0 (761,1; 35%; [Ir₂(Cp*)₂Cl₃]⁺), 727,1 (727,1; 40%; {[Ir₂(Cp*)₂Cl₂]+H}⁺), 693,2 (693,1; 100%; {[Ir₂(Cp*)₂Cl]+2H}⁺), 657,3 (657,2; 30%; {[Ir₂(Cp*)₂]+3H}⁺), 594,9 (595,0; 5%; [Ir(Cp*)(3Cl5Braza)Cl]⁺), 557,1 (557,0; 5%; {[Ir(Cp*)(3Cl5Braza)]-H}⁺), 363,1 (363,1; 20%; [Ir(Cp*)Cl]⁺), 233,0 (232,9; 5%; {(3Cl5Braza)+H}⁺) *m/z*. ESI- MS (methanol): 628,8 (628,9; 20%; {[Ir(Cp*)(3Cl5Braza)Cl₂]-H}⁻), 593,0 (593,0; 10%; {[Ir(Cp*)(3Cl5Braza)Cl]-2H}⁻), 432,9 (433,0; 5%; [Ir(Cp*)Cl₃]⁻), 397,1 (397,0; 5%; {[Ir(Cp*)Cl₂]-H}⁻), 231,1 (230,9; 100%; {(3Cl5Braza)-H}⁻) *m/z*.

[Ir(η^5 -Cp*)(3I5Braza)Cl₂] (5): ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃, 300 K): δ 11,45 (s, N1-H), 8,72 (s, C6-H), 7,91 (s, C4-H), 7,45 (s, C2-H), 1,49 (s, Cp*-H15) ppm. ESI+ MS (methanol): 761,0 (761,1; 95%; [Ir₂(Cp*)₂Cl₃]⁺), 727,1 (727,1; 50%; {[Ir₂(Cp*)₂Cl₂]+H}⁺), 693,2 (693,1; 100%; {[Ir₂(Cp*)₂Cl]+2H}⁺), 657,3 (657,2; 10%; {[Ir₂(Cp*)₂]+3H}⁺), 649,1 (648,9; 5%; {[Ir(Cp*)(3I5Braza)]-H}⁺), 363,1 (363,1; 30%; [Ir(Cp*)Cl]⁺), 323,0 (322,9; 5%; {(3I5Braza)+H}⁺) *m/z*. ESI- MS (methanol): 720,7 (720,9; 25%; {[Ir(Cp*)(3I5Braza)Cl₂]-H}⁻), 683,0 (682,9; 5%; {[Ir(Cp*)(3I5Braza)Cl]-2H}⁻), 432,8 (433,0; 5%; [Ir(Cp*)Cl₃]⁻), 397,1 (397,0; 5%; {[Ir(Cp*)Cl₂]-H}⁻), 321,2 (320,9; 100%; {(3I5Braza)-H}⁻) *m/z*. IR ($\nu_{\text{ATR}}/\text{cm}^{-1}$): 455w, 477w, 513m, 566w, 595m, 616w, 634m, 705m, 760w, 816m, 903m, 983s, 1026s, 1084m, 1182m, 1225m, 1268vs, 1321s, 1376s, 1411m, 1458vs, 1485m, 1570m, 1982w, 2016w, 2036w, 2163w, 2198w, 2288w, 2322w, 2917m, 2964m, 3078s, 3274vs, 3561w, 3582w, 3643w, 3666w, 3731w, 3795w, 3848w.

[Ir(η^5 -Cp*)(5Faza)Cl₂] (6): ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃, 300 K): δ 11,09 (s, N1-H), 8,61 (s, C6-H), 7,68 (m, C4-H), 7,40 (t, *J* = 2,7 Hz, C2-H), 6,54 (dd, *J* = 3,4, 2,1 Hz,

C3–H), 1,57 (s, Cp*–H15) ppm. ESI+ MS (methanol): 761,0 (761,1; 80%; [Ir₂(Cp*)₂Cl₃]⁺), 727,1 (727,1; 30%; {[Ir₂(Cp*)₂Cl₂]+H}⁺), 693,2 (693,1; 100%; {[Ir₂(Cp*)₂Cl]+2H}⁺), 657,2 (657,2; 30%; {[Ir₂(Cp*)₂]+3H}⁺), 498,9 (499,1; 5%; [Ir(Cp*)(5Faza)Cl]⁺), 463,3 (463,1; 5%; {[Ir(Cp*)(5Faza)]–H}⁺), 363,1 (363,1; 40%; [Ir(Cp*)Cl]⁺), 137,2 (137,1; 5%; {(5Faza)+H}⁺) *m/z*. ESI– MS (methanol): 533,1 (533,1; 30%; {[Ir(Cp*)(5Faza)Cl₂]–H}[–]), 499,0 (499,1; 35%; {[Ir(Cp*)(5Faza)Cl]–2H}[–]), 433,0 (433,0; 40%; [Ir(Cp*)Cl₃][–]), 397,2 (397,0; 20%; {[Ir(Cp*)Cl₂]–H}[–]), 135,3 (135,0; 10%; {(5Faza)–H}[–]) *m/z*. IR (ν_{ATR}/cm^{–1}): 468w, 487m, 572w, 584w, 606m, 634w, 664m, 730m, 748s, 797s, 877m, 890m, 910m, 927m, 987m, 1029s, 1064m, 1089m, 1131s, 1159w, 1206m, 1238s, 1284vs, 1335s, 1379s, 1402m, 1428m, 1450m, 1487vs, 1501m, 1592m, 2414w, 2918m, 2981m, 3059m, 3098m, 3131m, 3293vs.

[Ir(η⁵-Cp*)(3Claza)Cl₂] (7): ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃, 300 K): δ 11,17 (s, N1–H), 8,69 (d, *J* = 4,1 Hz, C6–H), 7,97 (d, *J* = 6,9 Hz, C4–H), 7,31 (s, C2–H), 7,21 (t, *J* = 6,2, C5–H), 1,49 (s, Cp*–H15) ppm. ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ 11,97 (s, N1–H), 8,30 (dd, *J* = 4,8, 1,4 Hz, C6–H), 7,92 (d, *J* = 7,6 Hz, C4–H), 7,67 (s, C2–H), 7,17 (m, C5–H), 1,62 (s, Cp*–H15) ppm. ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ 146,7, 143,9, 125,7, 123,2, 117,1, 116,2, 101,8, 92,1, 8,2 ppm. ESI+ MS (methanol): 761,0 (761,1; 100%; [Ir₂(Cp*)₂Cl₃]⁺), 727,1 (727,1; 20%; {[Ir₂(Cp*)₂Cl₂]+H}⁺), 693,2 (693,1; 90%; {[Ir₂(Cp*)₂Cl]+2H}⁺), 657,3 (657,2; 50%; {[Ir₂(Cp*)₂]+3H}⁺), 515,0 (515,1; 10%; [Ir(Cp*)(3Claza)Cl]⁺), 479,2 (479,1; 10%; {[Ir(Cp*)(3Claza)]–H}⁺), 363,1 (363,1; 50%; [Ir(Cp*)Cl]⁺), 153,1 (153,0; 10%; {(3Claza)+H}⁺) *m/z*. ESI– MS (methanol): 548,9 (549,0; 30%; {[Ir(Cp*)(3Claza)Cl₂]–H}[–]), 432,9 (433,0; 100%; [Ir(Cp*)Cl₃][–]), 397,1 (397,0; 60%; {[Ir(Cp*)Cl₂]–H}[–]) *m/z*. IR (ν_{ATR}/cm^{–1}): 439w, 470w, 509m, 571w, 586w, 602m, 632m, 673m, 759m, 788w, 805m, 858m, 1009vs, 1030s, 1055w, 1081w, 1122w, 1159w, 1203m, 1280s, 1319s, 1331m, 1360w, 1379m, 1417m, 1434s, 1451s, 1482m, 1587s, 1600m, 1711w, 2917m, 2979m, 3014m, 3053m, 3085vs, 3148w, 3252vs, 3729w, 3847w.

3.3 Studium stability komplexu **7**

Vybraný komplex $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(3\text{Claza})\text{Cl}_2]$ (**7**) byl v množství 2 mg rozpuštěn ve 120 μl $\text{DMSO-}d_6$ a do vzniklého roztoku bylo přidáno 480 μl D_2O . Vzniklý roztok studovaného komplexu **7** v 20% $\text{DMSO-}d_6/80\%$ D_2O (pozn. DMSO musí být přidán kvůli nedostatečné rozpustnosti studovaných komplexů v samotné vodě) byl následně studován ^1H NMR spektroskopii v různých časových bodech (spektra byla zaznamenána pro čerstvý roztok a následně po 24 a 48 hod stání při laboratorní teplotě). Analogický experiment byl proveden i pro roztok komplexu **7** v čistém $\text{DMSO-}d_6$.

4 Výsledky a diskuze

Byla připravena série sedmi organokovových polosendvičových iriditých dichloro komplexů o obecném vzorci $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(n\text{aza})\text{Cl}_2]$ s různě substituovanými deriváty 7-azaindolu, které v komplexech vystupují jako monodentátní *N*-donorové ligandy. Syntézy komplexů **1–7** byly provedeny analogicky, viz Schéma 2.

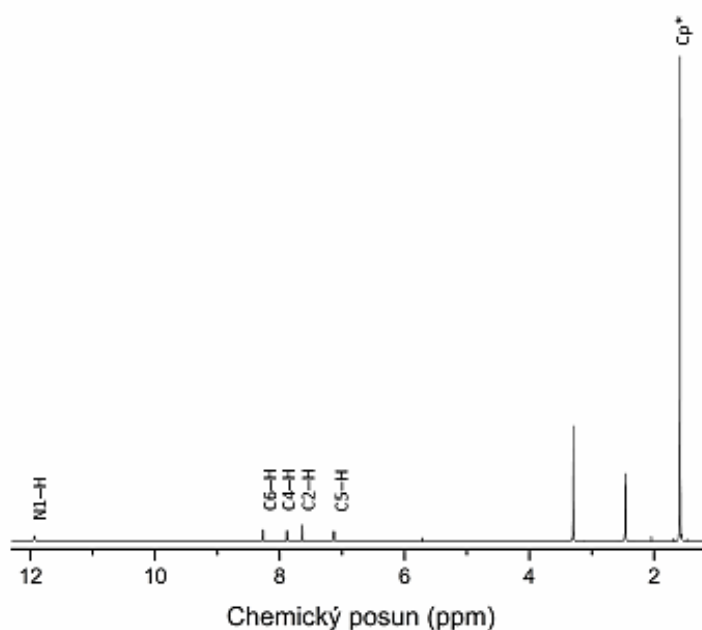
Důvodem k použití derivátů 7-azaindolu jako ligandu iriditých komplexů byly takové, že tato molekula představuje velmi zajímavý biologický motiv, od kterého jsou odvozeny deriváty nebo platnaté koordinační sloučeniny, které prokázaly výrazné biologické účinky, např. antiproliferační aktivitu [52-54], (částečné agonistické účinky na nikotinových receptorech [55], inhibici kináz [56,57], atd., a v neposlední řadě i skutečnost, že komplexy neplatínových prvků VIII.B skupiny PSP s *N*-donorovým ligandem na bázi 7-azaindolu (nebo jiného jeho izomeru) nebyly v době zadání této práce v literatuře popsány (v průběhu řešení bakalářské práce byla publikována práce popisující Ru(II) polosendvičové dichloro komplexy s deriváty 7-azaindolu [58]). Použití iridia jako centrálního atomu vychází ze současných poznatků moderní bioanorganické chemie, poukazující na vysokou perspektivu jeho komplexů pro protinádorovou terapii.

Připravené komplexní sloučeniny byly charakterizovány elementární analýzou C, H, N prvků (Tabulka 1.). Z výsledků plyne, že rozdíly mezi teoretickými hodnotami a naměřenými hodnotami daných prvků jsou menší než obecně požadovaných 0,5 %.

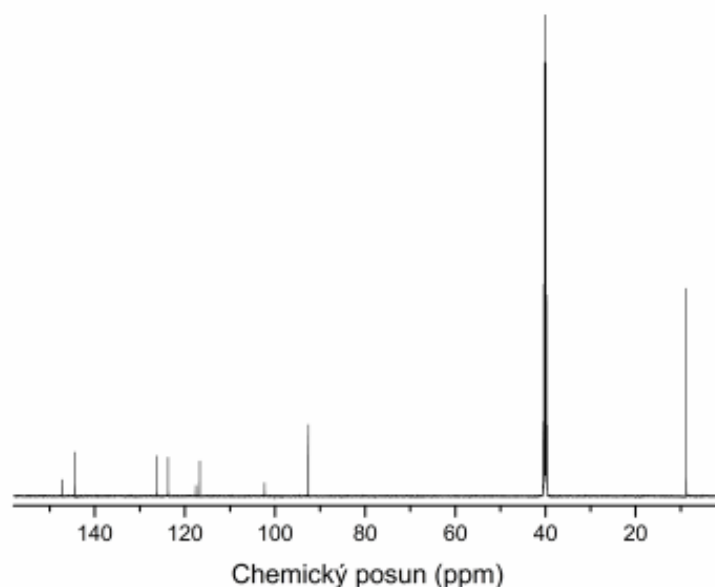
Tabulka 1. Výsledky elementární analýzy připravených komplexů **1-7**

		C [%]	H [%]	N [%]
		nal. / teor.	nal. / teor.	nal. / teor.
$[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(3\text{Iaza})\text{Cl}_2]$ (1)	$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{Cl}_2\text{Ir}$	31,56 / 31,79	3,04 / 3,14	4,26 / 4,36
$[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(4\text{Claza})\text{Cl}_2]$ (2)	$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{Cl}_3\text{Ir}$	36,82 / 37,06	3,44 / 3,66	5,11 / 5,08
$[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(5\text{Braza})\text{Cl}_2]$ (3)	$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{Cl}_2\text{BrIr}$	34,67 / 34,29	3,36 / 3,39	4,65 / 4,71
$[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(3\text{Cl5Braza})\text{Cl}_2]$ (4)	$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{Cl}_3\text{BrIr}$	32,37 / 32,18	3,20 / 2,96	4,44 / 4,49
$[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(3\text{I5Braza})\text{Cl}_2]$ (5)	$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{Cl}_2\text{BrIr}$	28,27 / 27,86	2,79 / 2,59	3,88 / 3,49
$[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(5\text{Faza})\text{Cl}_2]$ (6)	$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{Cl}_2\text{FIr}$	38,20 / 38,29	3,77 / 3,92	5,24 / 4, 92
$[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(3\text{Claza})\text{Cl}_2]$ (7)	$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{Cl}_3\text{Ir}$	37,06 / 36,85	3,66 / 3,45	5,08 / 4,93

U všech komplexů byla provedena ^1H NMR spektroskopie, v případě komplexu **7** i ^{13}C NMR spektroskopie včetně příslušných 2D experimentů (viz Experimentální část). Bylo zjištěno, že ^1H NMR všech studovaných komplexů **1-7** obsahují signály všech vodíkových atomů obou typů ligandů obsažených ve struktuře těchto látek (s odpovídajícím poměrem integrálních intenzit), a to včetně signálu odpovídajícímu vodíkovému atomu N1-H skupiny daných *N*-donorových *naza* ligandů (konkrétní příklad pro komplexu **7** je znázorněn v Obr. 14.), což nepřímo poukazuje na fakt, že se *naza* ligandy koordinují na centrální atom přes dusíkový atom N7. Toto zjištění potvrzuje rovněž skutečnost, že hodnoty chemických posunů velmi dobře korelují s hodnotami zjištěnými pro podobný organokovový polosendvičový dichloro komplex obsahující, stejně jako **7**, *3Claza* derivát 7-azaindolu, avšak je koordinován na centrální atom ruthenia v rámci sloučeniny $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cym})(3\text{Claza})\text{Cl}_2]$ (*p*-cym = *p*-cymen) [58]. Tento Ru(III) komplex byl navíc charakterizován monokrystalovou rentgenovou strukturní analýzou, která jednoznačně prokázala uvedený způsob koordinace *3Claza* přes N7 dusíkový atom pyridinového cyklu 7-azaindolu. V případě ^{13}C NMR spektra (Obr. 15) změřeného pouze u komplexu **7** lze opět konstatovat, že ve spektru byly detekovány signály všech uhlíkových atomů studované látky. Je rovněž nutné zmínit, že ani ^1H NMR ani ^{13}C NMR spektra neobsahovala signály výchozích sloučenin, což společně s výsledky elementární analýzy potvrzuje čistotu připravených produktů.

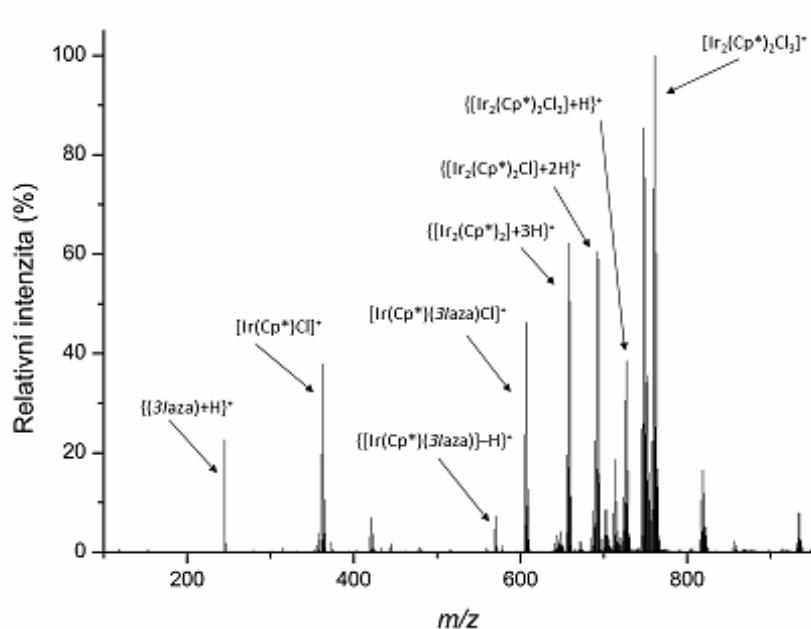


Obr. 14. ^1H NMR spektrum komplexu $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(3\text{Claza})\text{Cl}_2]$ (**7**)

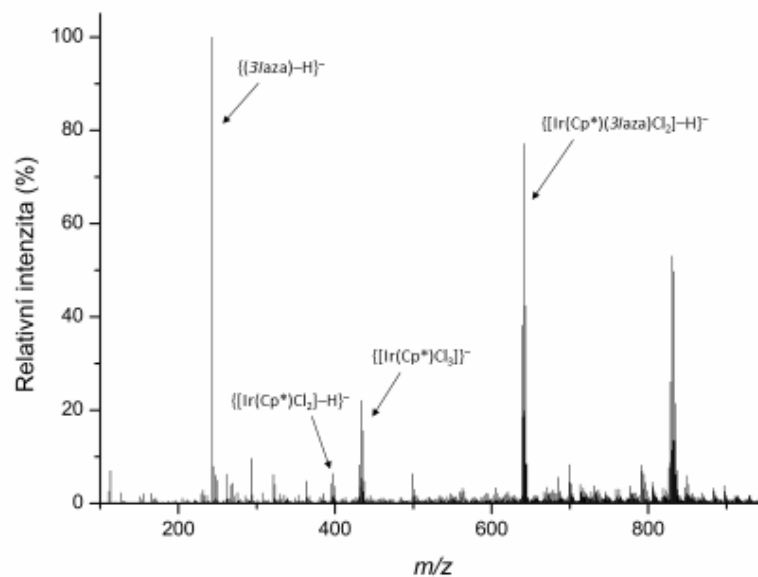


Obr. 15. ^{13}C NMR spektrum komplexu $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(3\text{Claza})\text{Cl}_2]$ (**7**)

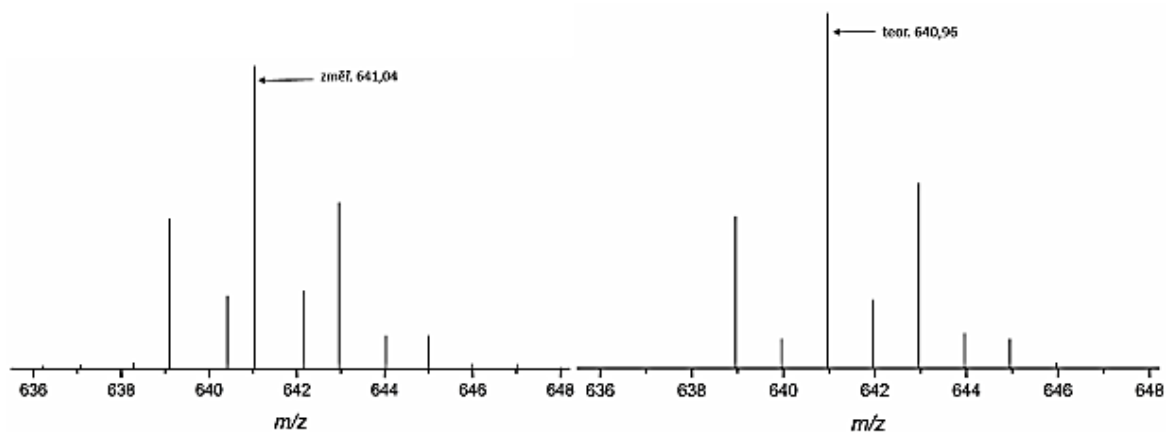
Dále byly připravené komplexní sloučeniny charakterizovány pomocí hmotnostní spektrometrie za použití s ionizací elektrosprejem jak v kladném (ESI+), tak i záporném (ESI-) modu. Hmotnostní spektra všech komplexů obsahují píky, které svými hodnotami m/z a izotopovým rozložením odpovídají částicím $[\text{Ir}(\text{Cp}^*)(\text{naza})\text{Cl}]^+$ detekovaným v ESI+ hmotnostních spektrech a $\{[\text{Ir}(\text{Cp}^*)(\text{naza})\text{Cl}_2]-\text{H}\}^-$, jejichž signály byl přítomny v ESI- hmotnostních spektrech. Kromě těchto charakteristických píku hmotnostní spektra obsahovala mnoho dalších píků, které byly přiřazeny různým částicím vzniklým ze studovaných komplexů vlivem použitých ionizačních podmínek, včetně signálů dimerních částic. Ve spektrech se objevily i píky, které odpovídaly sloučeninám bez *N*-donorového ligandu, jako je v ESI+ hmotnostním spektru částice $[\text{Ir}(\text{Cp}^*)\text{Cl}]^+$ nebo v ESI- hmotnostním spektru detekována částice $[\text{Ir}(\text{Cp}^*)\text{Cl}_3]^-$. V důsledku tohoto uvolňování naza ligandu byly ve spektrech pozorovány píky odpovídající příslušným *N*-donorovým ligandům, a to v obou ionizačních modech. Vzorový ESI+ (Obr. 16.) a ESI- (Obr. 17.) hmotnostní spektra jsou znázorněna pro komplex $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(3\text{Iaza})\text{Cl}_2]$ (**1**). Na Obr. 18 pak můžeme vidět srovnání mezi molekulovým píkem $\{[\text{Ir}(\text{Cp}^*)(3\text{Iaza})\text{Cl}_2]-\text{H}\}^-$ experimentálně zjištěným a teoreticky vypočítaným pro komplex **1**.



Obr. 16. Hmotnostní spektrum komplexu $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(3\text{Iaza})\text{Cl}_2]$ (**1**) měřeno v kladném modu (ESI+)

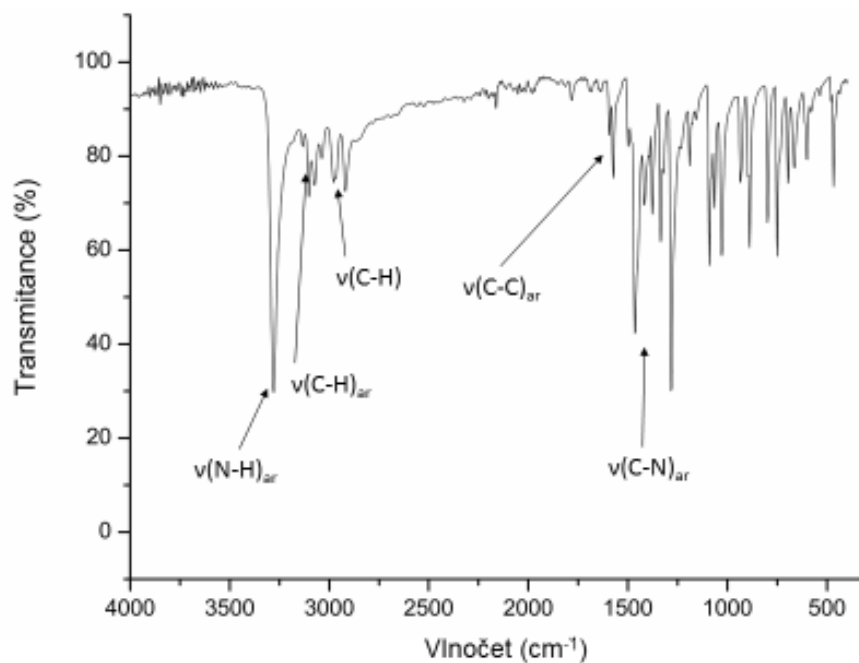


Obr. 17. Hmotnostní spektrum komplexu $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(3\text{Iaza})\text{Cl}_2]$ (**1**) měřeno v záporném modu (ESI-)

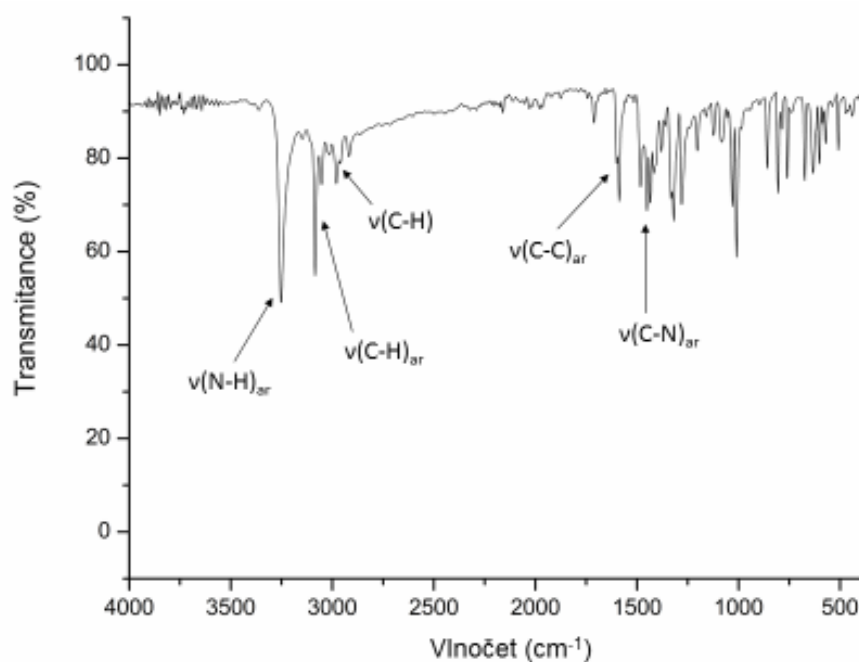


Obr. 18. Srovnání experimentálně zjištěného (vlevo) a teoreticky vypočítaného (vpravo) molekulového píku $\{[\text{Ir}(\text{Cp}^*)(3\text{Iaza})\text{Cl}_2]\text{H}\}^-$ pro komplex **1**

Poslední metodu, která byla použita k charakterizaci připravených komplexních sloučenin, byla infračervená spektroskopie (provedena technikou ATR v rozsahu vlnočtů $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$). Ve FTIR spektrech můžeme pozorovat jak charakteristické vibrace příslušného derivátu 7-azaindolu [59], tak i použitého cyklopentadienylového ligandu (tedy Cp^* pro komplexy **1-7**). Přítomnost derivátů 7-azaindolu ve struktuře studovaných komplexů **1-7** je pohledem FTIR spektroskopie patrná v důsledku detekování píků přiřaditelných vibracím $\nu(\text{N-H})_{\text{ar}}$ v intervalu $3290\text{--}3252\text{ cm}^{-1}$, $\nu(\text{C-H})_{\text{ar}}$ v intervalu $3102\text{--}3078\text{ cm}^{-1}$, $\nu(\text{C-C})_{\text{ar}}$ v intervalu $1592\text{--}1570\text{ cm}^{-1}$, respektive vibracím vazby C-N spojeným s deformací azaindolového kruhu, které byly detekovány jako několik maxim v oblasti $1490\text{--}1340\text{ cm}^{-1}$. V případě Cp^* ligandu byly detekovány charakteristické píky v oblastech okolo 2500 cm^{-1} , 1450 cm^{-1} a 810 cm^{-1} [60]. Jako reprezentativní byla vybrána FTIR spektra komplexů **3** (Obr. 19.) a **7** (Obr. 20.).



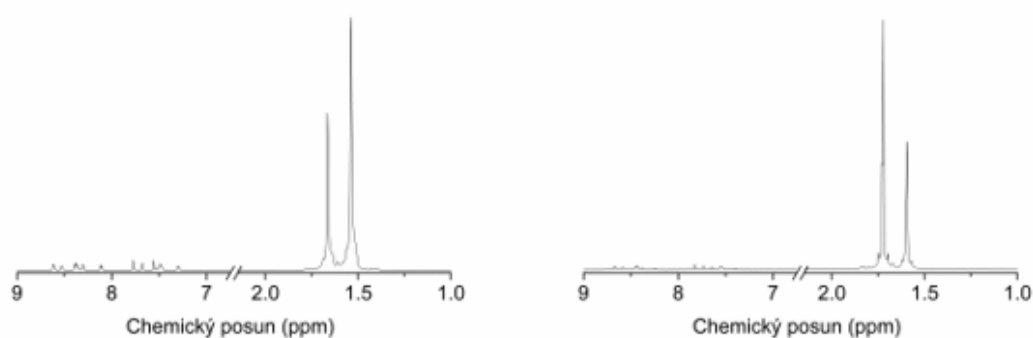
Obr. 19 Infračervené spektrum komplexu $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(5\text{Braza})\text{Cl}_2]$ (**3**)



Obr. 20. Infračervené spektrum komplexu $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(3\text{Claza})\text{Cl}_2]$ (**7**)

4.1 Studium stability komplexu 7

^1H NMR spektrum reprezentativního komplexu **7** rozpuštěného v $\text{DMSO-}d_6$ bylo měřeno v různých časových intervalech a bylo zjištěno, že tento komplex je v použitém rozpouštědle stabilní, jelikož nebyly pozorovány žádné vznikající signály ani po 48 hodinách stání za laboratorní teploty (Obr. 14.). Naproti tomu v ^1H NMR spektru komplexu **7** rozpuštěného v 20% $\text{DMSO-}d_6/80\%$ D_2O bylo ihned po přípravě vzorku pozorováno více signálů, než u vzorku rozpuštěného v čistém $\text{DMSO-}d_6$ (Obr. 21.). Následným stáním za laboratorní teploty po dobu 48 hodin již další nové signály detekovány nebyly, pouze u těch stávajících došlo k nepatrné změně v poměru intenzit signálů jednotlivých částic (Obr. 21.). Toto zjištění poukazuje na nestabilitu studovaných polosandvičových dichloro komplexů ve vodu obsahujících rozpouštědlech. Přeneseně tato skutečnost znamená, že tyto látky nejsou vhodnými kandidáty pro následné biologické testování na vybraných lidských buněčných nádorových liniích, jelikož nesplňují jednu ze základních podmínek kladených na potenciální biologicky aktivní látky.



Obr. 21. Srovnání ^1H NMR spektra komplexu $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(3\text{Claza})\text{Cl}_2]$ (**7**) rozpuštěného v 20% $\text{DMSO-}d_6/80\%$ D_2O zaznamenanými ihned po přípravě vzorku (vlevo) a po 48 hodinách stání za laboratorní teploty (vpravo)

5 Závěr

Byla provedena literární rešerše protinádorově aktivních koordinačních sloučenin přechodných kovů se zaměřením na klinicky používané komplexy platiny a mimo tyto látky pak na protinádorově aktivní komplexy iridia, a to včetně popisu jejich mechanismu účinků. Dále byla připravena série organokovových polosendvičových dichloroiriditých komplexů s vybranými halogenderiváty 7-azaindolu (*naza*), které v připravených komplexech obecného složení $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{naza})\text{Cl}_2]$ (**1–7**), vystupují jako monodentátní *N*-donorové ligandy; $\text{Cp}^* = 1,2,3,4,5\text{-pentametylcyklopentadienyl}$. Komplexy **1–7** byly charakterizovány vhodnými fyzikálně-chemickými metodami, a to konkrétně elementární analýzou (C, H, N), FTIR, ^1H NMR a ^{13}C NMR spektroskopií a hmotnostní spektrometrií v kladném i v záporném modu. Výsledky z uvedených metod prokázaly předpokládané složení připravených koordinačních sloučenin iridia. U reprezentativního komplexu **7** byla provedena i ^1H NMR studie stability v roztoku. Z měření provedeného ve směsi 20% DMSO-*d*₆/80 % D₂O vyplývá, že studovaná látka je ve vodu obsahujících rozpouštědlech nestabilní a rozkládá se. Z tohoto důvodu lze konstatovat, že připravená série komplexů **1–7** není vhodná pro následná biologická testování, jako je pro podobné Ir(III) sloučeniny běžně prováděné testování *in vitro* cytotoxicity na vybraných lidských buněčných nádorových liniích.

6 Použitá literatura

- [1] JUNGWIRTH, U, et al. *Antioxid. Redox Signaling*. **2011**, 00, 1–43.
- [2] GILEN, M.; TIEKINK, E. R. T. *Metallotherapeutic Drugs and Metal-Based Diagnostic Agens: The Use of Metals in Medicine*. John Wiley & Sons, Ltd, 2005, s. 506. ISBN 0470864036.
- [3] LIU, Z.; HABTTEMARIAM, A.; PIZARRO, A. M.; CLARKSON, G. J.; SADLER, P. J. *Organometallics*. **2011**, 30, 4702–4710.
- [4] DESOIZE, B. *Anticancer Res*. **2004**, 24, 1529–1544.
- [5] *Státní ústav pro kontrolu léčiv* [online]. 2015 [cit. 2016-04-15]. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/>
- [6] SUDDING, L. C. et al. *J. Organomet. Chem*. **2014**, 774, 79–85.
- [7] CUTILLAS, N. *Coord. Chem. Rev*. **2013**, 257, 2784–28797.
- [8] KELLAND, L. *Nat. Rev. Cancer*. **2007**, 7, 573–584.
- [9] GIBSON, D. *Dalton Trans*. **2009**, 10681–10689.
- [10] ROMERO-CANELON, I; SADLER, P. J. *Inorg. Chem*. **2013**, 52, 12276–12291.
- [11] MEDICI, S. *Coord. Chem. Rev*. **2015**, 284, 329-350.
- [12] PUYO, S. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. **2014**, 89, 43–61.
- [13] SIDDIK, Z. H. *The Cacer Handbook 1st Editation*. John Wiley & Sons, Ltd, 2002, s. 1–16. ISBN 9780470025079.
- [14] YANG, Q. *Biorg. Med. Chem. Lett*. **2013**, 23, 4603–4607.
- [15] FODALE, V.; PIEROBON, M.; LIOTTA, L.; PETRICOIN, E. *The Cancer Journal*. **2011**, 17, 89–95.
- [16] GUPTA, R. K.; SHARMA, G.; PANDEY, R.; KUMAR, A.; KOCH, B.; LI, P.-Z.; XU, Q.; PANDAY, D. S. *Inorg. Chem*. **2013**, 52, 13984–13996.
- [17] NOVOHRADSKY, V.; LIU, Z.; VOJTISKOVA, M.; SADLER, P. J.; BRABEC, V.; KASPARKOVA, J. *Metallomics*, **2014**, 6, 682–690.

- [18] KÖBERLE, B.; TOMICIC, M. T.; USANOVA, S.; KAINA, B. *Biochim. Biophys. Acta.* **2010**, 1806, 172–182.
- [19] LEUNG, C.-H. et. al. *Coord. Chem. Rev.* **2013**, 257, 1764–1776.
- [20] QI, Y.; LIU, Z.; LI, H.; SADLER, P. J.; O’CONNOR, P. B. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2013**, 27, 2028–2032.
- [21] NOVOHRADSKY, V.; ZERZANKOVA, L.; STEPANKOVA, J.; KISOVA, A.; KOSTRHUNOVA, H.; LIU, Z.; SADLER, P. J.; KASPARKOVA, J.; BRABEC, V. *Metallomics*, **2014**, 6, 1491–1501.
- [22] REBUCCI, M. MICHIELS, C. *Biochem. Pharmacol.* **2013**, 85, 1219–1226.
- [23] KENNEDY, F. D.; NOVA, A.; WILLIS, C. A.; EISENTEIN, O.; MESSERLE, B. A. *Dalton Trans.* **2009**, 10296–10304.
- [24] LIU, Z.; HABTEMARIAM, A.; PIZZARO, A. M.; FLETCHER, S. A.; KISOVA, A.; VRANA, O.; SALASSA, L.; BRUIJNINCX, P. C. A.; CLARKSON, G. J.; BRABEC, V.; SADLER, P. J. *J. Med. Chem.* **2015**, 54, 3011–3026.
- [25] HEAM, J. M.; ROMERO-CANELON, I.; QAMAR, B.; LIU, Z.; HANDSPORTMAN, I.; SADLER, P. J. *ACS. Chem. Biol.* **2013**, 8, 1335–1343.
- [26] WOOLLINS, J. D. et. al. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2009**, 4483–4490.
- [27] ROMERO-CANELON, I.; SADLER, P. J. *Inorg. Chem.* **2013**, 52, 12276–12291.
- [28] LIU, Z.; SALASSA, L.; HABTEMARIAM, A.; PIZZARO, A. M.; CLARKSON, G. J.; SADLER, P. *Inorg. Chem.* **2011**, 50, 5777–5783.
- [29] GELDMACHER, Y.; OLESZAK, M.; SHELDRIK, W. S. *Inorg. Chim. Acta.* **2012**, 393, 84–102.
- [30] KARPIN, G. W., MEROLA, J. S.; FALKINHAM III, J. O. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2013**, 57, 3434–3436.
- [31] LUDWIG, G. et al. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, 69, 216–222.
- [32] ALMODARES, Z.; LUCAS, S. J.; CROSSLEY, B. D.; BASRI, A. AM.; PASK, C. M.; HEBDEN, A. J.; PHILLIPS, R. M.; MCGOWAN, P. C. *Inorg. Chem.* **2014**, 53, 727–736.
- [33] KALIDASAN, M. *Inorg. Chim. Acta.* **2014**, 421, 349–358.

- [34] WIRTH, S.; ROHBOGNER, C. J.; CIESLAK, M.; KAZMIERCZAK-BARANSKA, J.; DONEVSKI, S.; NAWROT, B.; LORENZ, I.-P. *J. Biol. Chem.* **2010**, 15, 429–440.
- [35] LIU, Z.; SADLER, P. J. *Acc. Chem. Res.* **2014**, 47, 1174–1185.
- [36] NKOAMA, W. et al. *J. Organomet. Chem.* **2014**, 752, 67–75.
- [37] YADAV, M. et al. *J. Organomet. Chem.* **2010**, 695, 841–849.
- [38] LIU, Z.; DEETH, R.; BUTLER, J. S.; HABTTEMARIAM, A.; NEWTON, M. E.; CLARKSON, G. J.; SADLER, P. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 4194–4197.
- [39] BETANZOS-LARA, S.; LIU, Z.; HABTTEMARIAM, A.; PIZARRO, A. M.; QAMAR, B.; SADLER, P. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 3897–3900.
- [40] CASINI, A.; EDAFE, F.; ERLADNSSON, M. E.; GONSALVI, L.; CIANCETTA, A.; RE, N.; IENCO, A.; MESSORI, L.; PERUZZINI, M.; DYSON, P. J. *Dalton Trans.* **2010**, 39, 5556–5563.
- [41] OGO, S.; MAKIHARA, N.; KANEKO, Y.; WATANABE, Y. *Organometallics.* **2001**, 20, 4903–4910.
- [42] HUBEL, R.; POLBORN, K.; BECK, W. *Eur. J. Inorg. Chem.* **1999**, 471–482.
- [43] BOBKA, R.; ROEDEL, J. N.; NEUMAN, B.; KRINNIGER, C.; MAYR, P.; WUNDERLICH, S.; PENGINE, A.; LORENZ, I.-P. *Z. Anorg. Allg. Chem.* **2007**, 633, 1985–1994.
- [44] BASHINOV, D. A. *Polyhedron.* **2012**, 42, 168–174.
- [45] NOVOHRADSKY, V.; LIU, Z.; VOJTISKOVA, M.; SADLER, P. J.; BRABEC, V.; KASPARKOVA, J. *Metallomics.* **2014**, 6, 682–690.
- [46] LIU, Z.; ROMERO-CANELON, I.; HABTTEMARIAM, A.; PIZARRO, A. M.; CLARKSON, G. J.; SADLER, P. J. *Organometallics.* **2014**, 33, 5324–5333.
- [47] CHEN, Y.; QIAO, L.; YU, B.; LI, G.; IU, C.; JI, L.; CHAO, H. *Chem. Commun.* **2013**, 49, 11095–11097.
- [48] LI, Y. et al. *Biomaterials.* **2015**, 39, 95–104.
- [49] GELMACHER, Y. et al. *Inorg. Chim. Acta.* **2012**, 393, 84–102.

- [50] KAST, A.; WILBUER, A.; MERKEL, A. L.; FENG, L.; FAZIO, P. D.; OCKER, M.; MEGGERS, E. *Chem. Commun.* **2012**, 48, 1863–1865.
- [51] TÖNNEMANN, J.; RISSE, J.; GROTE, Z.; SCOPELLITI, R.; SEVERIN, K. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2013**, 4558–4562.
- [52] MUCHOVA, T.; PRACHAROVA, J.; STARHA, P.; OLIVOVA, R.; VRANA, O.; BENESOVA, B.; KASPARKOVA, J.; TRAVNICEK, Z.; BRABEC, V. J. *Biol. Inorg. Chem.* **2013**, 18, 579–589.
- [53] STARHA, P. et al. *J. Inorg. Chem.* **2012**, 115, 57–63.
- [54] JUNG, M.-H. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, 22, 4362–4367.
- [55] STOIT, A. R. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 18, 188–193.
- [56] GUMMADI, V. R. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, 23, 4911–4918.
- [57] MILLER, R. M.; PAAVILAINEN, V. O.; KRISHNAM, S.; SERAFIMOVA, I. M.; TAUTON, J. J. *Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 5298–5301.
- [58] STARHA, P.; HANOUSKOVA, L.; TRAVNICEK, Z. *PLoS One.* **2015**, 1–19
- [59] KARTHIKEYAN, B. *Spectrochim. Acta.* **2006**, 64, 1083–1084.
- [60] BENCZE, E. et al. *J. Organomet. Chem.* **2001**, 627, 55-66.